

Untersuchungen zum Glucuronsäurestoffwechsel

**Über den Einfluß von Insulin und Glucagon auf den
Serum-Glucuronsäurespiegel bei Ratten**

von

Bruno Dieter Naundorf

aus

Bremen



Digitized by the Internet Archive
in 2026



Aus der Kinderklinik
der Universität Heidelberg
Damaliger Direktor: Professor Dr. med. P. Bamberger

Untersuchungen zum Glucuronsäurestoffwechsel

**Über den Einfluß von Insulin und Glucagon auf den
Serum-Glucuronsäurespiegel bei Ratten**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Bruno Dieter Naundorf

aus

Bremen

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen - Nürnberg

Untersuchungen zum Glukoseaustausch

Über den Einfluß von Insulin und Glukagon auf den
Serum-Glukoseaustausch bei Ratten

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der Medizinischen Fakultät

der Friedrich-Alexander-Universität

in Erlangen-Nürnberg



Dekan : Professor Dr.med.G.Koch
Referent : Professor Dr.med.K.Schreier
Korreferent : Professor Dr.med.A.Windorfer

Tag der mündlichen Prüfung: 9. 6. 1972

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung:	
Entgiftungsmöglichkeiten im Säugetierorganismus, Bedeutung für die Neugeborenen-Hyperbilirubin- ämie	1
II. Wirkungsphysiologie von	
A. Insulin	5
B. Glucagon	18
III. Die Glucuronsäure im Säugetierstoffwechsel	
1) Die Glucuronsäuresynthese.....	28
2) Verbleib der Glucuronsäure.....	30
IV. Experimenteller Teil	
Anordnung und Durchführungsbedingungen der Tierversuche	49
V. Ergebnisse und Tabellen	
A. Ergebnisse der Glucuronsäurebestimmung....	52
B. Ergebnisse der Blutzuckerbestimmung.....	58
VI. Interpretation und Diskussion.....	60
VII. Zusammenfassung.....	64
VIII. Literaturverzeichnis.....	66
Lebenslauf.....	77

I. Einleitung

Die forschende Humanmedizin befaßt sich seit langem mit den Problemen der Eliminierung exogener toxischer Substanzen sowie auch körpereigener potentiell giftiger Stoffwechselprodukte aus dem Organismus.

Das erst in jüngster Zeit geprägte Wort von der "Umweltverschmutzung" verdeutlicht die ungeheure Aktualität dieser Thematik, und es spiegelt die Bewußtseinsbildung breiter Bevölkerungskreise wider.

So beschäftigen sich Publizistik, Legislative und allen voran die Wissenschaft gleichermaßen energisch nicht nurmehr mit der akuten Gesundheitsgefährdung, sondern auch mit der Erkennung und der Eindämmung der Gefahren einer chronischen Belastung und Vergiftung des Menschen durch chemische Konservierungsstoffe, Insektizide, Schwermetalle und leider auch durch Arzneimittel.

Der Säugetierorganismus verfügt indessen über vielfältige Möglichkeiten der Unschädlichmachung und Ausscheidung zugeführter oder im eigenen Stoffwechsel entstehender und bei Anhäufung gefährlicher Substanzen.

In der Bewältigung dieser Aufgaben nimmt auch im menschlichen Organismus die Leber eine zentrale Position ein.

Es gibt daneben noch extrahepatische Entgiftungsmechanismen, die jedoch quantitativ im Schatten der

umfassenden Funktionen dieses stoffwechselaktiven Organs stehen.

R.T.WILLIAMS hat die Entgiftungsmöglichkeiten unter besonderer Berücksichtigung der vielfältigen Fähigkeiten der Leber folgendermaßen zusammengestellt:

- 1) Oxydation
- 2) Reduktion
- 3) Hydrolyse
- 4) Synthese

Unter der Rubrik "Synthese" sind aufgeführt:

- I. Veresterung mit Sulfat
- II. Die Glucuronsäurekonjugation
- III. Bindung an Aminosäuren

- a) Bindung an Glycocoll(Hippursäuresynthese)
- b) Bindung an Cystein(Merkaptursäuresynthese)
- c) Bindung an Ornithin(Ornithursäuresynthese)
- d) Bindung an Glutaminsäure

IV. Die Acethylierung

V. Die Methylierung

VI. Die Entgiftung durch Rhodanid

Der Weg, auf dem eine Substanz entgiftet wird, setzt sich häufig aus mehreren Reaktionsschritten zusammen, wobei einige der genannten Möglichkeiten nacheinander benutzt werden können. So muß damit gerechnet werden, daß auszuschcheidende Substanzen in verschiedenartige Zwischenprodukte verwandelt werden, bevor sie entweder unschädlich geworden sind und/oder den Körper verlassen haben. Dabei sind diese Möglichkeiten denkbar:

- 1) Im günstigsten Fall der direkte Weg zum inaktiven Ausscheidungsprodukt,
- 2) der Weg über ein inaktives Zwischenprodukt und
- 3) im ungünstigsten Fall über ein aktives und möglicherweise noch giftigeres Zwischenprodukt(R.T.WILLIAMS).

Wenn die zu eliminierenden Substanzen nicht im Stoffwechsel abgebaut werden können, sucht der Organismus sie durch chemische Umwandlung zu inaktivieren und unschädlich zu machen (Biotransformation) und über die Niere auszuschcheiden.

So sind Oxydation, Reduktion und Hydrolyse zwar die häufigsten Reaktionen, mit Hilfe derer der Körper sich fremder Substanzen entledigt.

Die Synthesemöglichkeiten der Leber erlangen jedoch gerade beim Menschen besondere Bedeutung, da bei ihm auf diesem Wege eine Reihe von Stoffen wie z.B. das Bilirubin (SCHMID, BILLING, COLE u. LATHE) eliminiert werden können.

Unter normalen Stoffwechselbedingungen liegt das hauptsächlich aus dem Hämoglobinabbau stammende Serum-bilirubin in seiner an Albumin gebundenen Transportform vor. Durch die vorwiegend in der Leberzelle stattfindende und durch das Ferment Glucuronyltransferase katalysierte Kopplung an Glucuronsäure entsteht das wasserlösliche, in der VAN DEN BERGH - Reaktion "direkt" reagierende Bilirubin, das nun galle- oder auch harnfähig wird. Mittels dieser Glucuronidierung werden beim Menschen etwa 80 % des Bilirubin ausgeschieden, etwa 20 % werden zuvor an Sulfat gebunden (ISSELBACHER u. MCCARTHY).

Bei der "transitorischen Neugeborenenhyperbilirubinämie" ist der an die Glucuronidierung gebundene Ausscheidungsprozeß gestört.

Und zwar können theoretisch folgende Einzelkomponenten als an dieser Störung ursächlich beteiligt angesehen werden (SCHRÖTER):

- 1) Ein gesteigertes Angebot von Bilirubin
- 2) Eine Störung der Diffusion des Bilirubins aus den Lebersinusoiden in das endoplasmatische Retikulum der Leberzelle, Ort des Konjugationsgeschehens
- 3) Eine Störung der Bilirubinkopplung selbst durch
 - a) Mangel an "aktiver" Glucuronsäure
 - b) Mangel an aktiven Fermenten (Glucuronyltransferase, Uridindiphosphat-Glucose-Dehydrogenase)
 - c) Mangel an energiereichen Phosphaten

4) Eine Störung der Sekretion des Bilirubinglucuronids aus der Leberzelle in die Gallenkapillaren.

Bei unreifen Neu- oder Frühgeborenen treten Hyperbilirubinämie und Ikterus häufiger, früher und stärker in Erscheinung, und die Hyperbilirubinämie hält länger an als bei reifen Neugeborenen (YLPPÖ, HSIA et al.; BILLING et al.; DIEKHOFF u. SCHMIDT; VEST; BARTON et al.; v. HARNACK u. FISCHER).

Eine Abhängigkeit des Schweregrades des Ikterus vom Reifezustand des Neugeborenen gilt als erwiesen (BILLING et al.; BOS u. SCHARFF; VEST; SCHELLONG).

Seit Jahren wird daher auch die "ungenügend entwickelte Funktion der Leberzelle" als Ursache für die transitorische Neugeborenenhyperbilirubinämie angesehen.

Ob allerdings die bei verschiedenen Versuchstieren nachgewiesene Erniedrigung der Glucuronyltransferaseaktivität in der Neugeborenenleber wirklich der limitierende Faktor der Bilirubinausscheidung ist, wird noch diskutiert (SCHRÖTER). Es wird jedoch nach wie vor angenommen, daß diese Komponente für das Zustandekommen der Hyperbilirubinämie des menschlichen Neugeborenen ätiologisch wesentlich ist (ALBEGGIANI u. MOGAVERO). Von Bedeutung muß dann auch ein ausreichender Vorrat an Ausgangssubstanzen und Fermenten für die Synthese der aktiven Glucuronsäure selbst sein.

Die aktivierte Glucuronsäure wird in der Leber aus Glucose und deren Depotform Glycogen synthetisiert. Es bietet sich die Überlegung an, ob von außen zugeführte Hormone, die einen bestimmenden Einfluß auf den Glucosestoffwechsel der Leber ausüben, nicht auch den Glucuronsäurestoffwechsel wesentlich beeinflussen können.

Die vorliegende Untersuchung soll daher ermitteln, welche Wirkung die Pankreashormone Insulin und Glucagon auf den Gehalt an freier und gebundener Glucuronsäure im Serum von jugendlichen Ratten haben könnte.

II. In den folgenden Abschnitten wird auf die Wirkungsphysiologie der Pankreashormone **I n s u l i n** und **G l u c a g o n** näher eingegangen, soweit die Vorgänge im einzelnen heute schon aufgeklärt sind und im vorliegenden Zusammenhang von Gewicht sein könnten.

A. Das **I N S U L I N**

1) Chemie und Synthese

Die Extraktion von Insulin aus dem Pankreas gelang BANTING und BEST im Jahre 1922, es folgten 1926 die Reindarstellung durch ABEL, die Ermittlung der Konstitutionsformel durch SANGER (1955) und die Synthese durch H. ZAHN in Deutschland und unabhängig von ihm durch KATSOYANNIS in den USA.

Menschliches Insulin ist ein Eiweiß mit dem Molekulargewicht von 5734. Es besteht aus zwei Polypeptidketten, der A- und B-Kette, die durch zwei Disulfidbrücken miteinander verbunden sind. In der A-Kette mit 21 Aminosäuren liegt eine weitere Disulfidbrücke. Die B-Kette setzt sich aus 30 Aminosäuren zusammen.

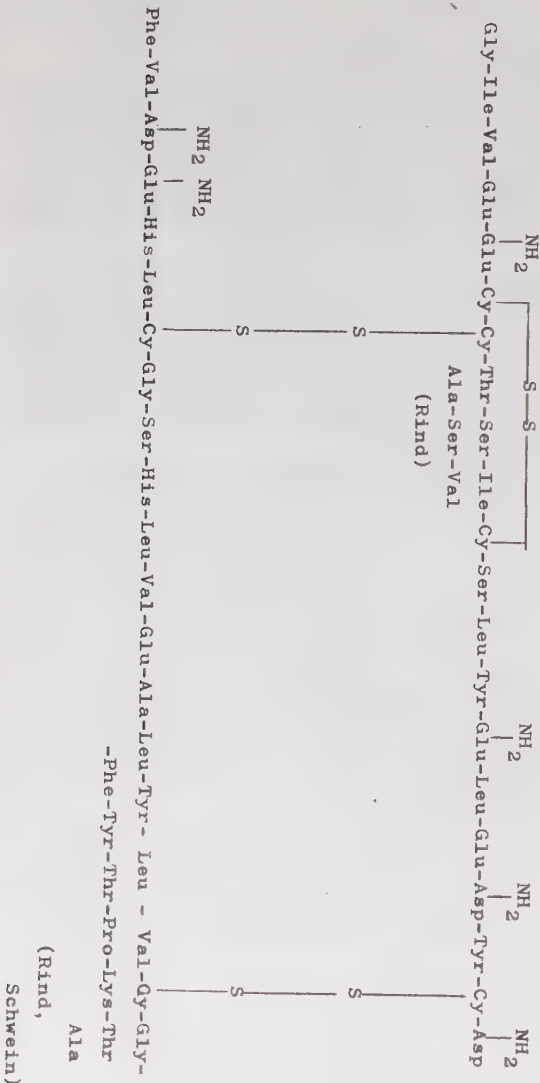
Das biologisch aktive Zentrum des Insulins ist nicht bekannt. Geringe Veränderungen der Struktur scheinen die Raumstruktur des Insulins so zu verändern, daß es seine Wirkung verliert. Auch durch Aufspaltung der Disulfidbrücken, Zerstörung der Imidazolreste der beiden Histidin-Moleküle und Abspaltung der C-terminalen acht Aminosäuren der B-Kette verliert Insulin seine Wirksamkeit. Es ist ferner beobachtet worden, daß die Abspaltung des C-terminalen Threonins allein die Aktivität des Insulins nicht verändert, wohl aber, wenn gleichzeitig der endständige Rest der A-Kette, ein Asparagin, entfernt wird (SLOBIN).

Die Insuline von Mensch, Rind, Schwein und Schaf unterscheiden sich in nur wenigen Aminosäuren beider Ketten.

Im Insulin des Meerschweinchens sind, verglichen mit dem menschlichen Insulin, 14 Aminosäuren ausgewechselt.

Die chemische Synthese der A- und B-Kette mit Konventionellen Methoden der Peptidsynthese und mit der Synthese an festen Trägern (solid state synthesis) von MERRIEFIELD(1967) scheint nach LABHART keine besonderen Probleme mehr zu bieten, jedoch soll das Problem der Kombination der beiden Ketten zum Insulinmolekül noch nicht ideal gelöst sein.

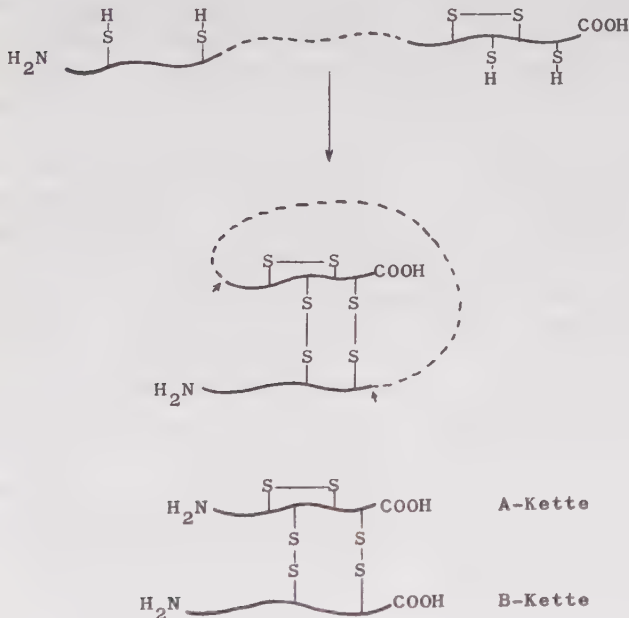
Das menschliche Insulin-Molekül :



2) Biosynthese und Sekretion des Insulins

Die Biosynthese des Insulins erfolgt an den Ribosomen der β -Inselzellen über einen einkettigen Vorläufer des Insulins, das Proinsulin (STEINER). In ihm sind A- und B-Kette enthalten und durch ein Verbindungspeptid miteinander verbunden, dessen Aminosäuresequenz 1968 von R.CHANCE aufgeklärt wurde.

Die Struktur dieses Verbindungspeptids, auch C-Kette genannt, variiert von Spezies zu Spezies viel erheblicher als die der A- und B-Kette. Eine Erklärung hierfür ist darin zu sehen, daß die C-Kette mit der biologischen Aktivität des späteren Insulins nichts zu tun hat und daß Gen-Mutationen, die die C-Kette betreffen, keinen wesentlichen Einfluß auf die Erhaltung der Art ausüben.



Schema nach D.F.STEINER

Auf dem Wege zur Speicherung des Insulins in den B-Zellgranula wird die C-Kette durch eine noch nicht bekannte Protease abgespalten. Kleine Mengen Proinsulin können allerdings mitunter in das Blut sezerniert werden und wurden auch schon im Urin nachgewiesen (LABHART).

Proinsulin ist ein starkes Antigen und führt beim Menschen zur Bildung von Antikörpern, die eine Kreuzreaktion mit Insulin aufweisen. Die beim Menschen durch Insulininjektionen induzierten Antikörper reagieren ebenfalls mit Proinsulin. Es wird noch diskutiert, ob die Antikörperbildung gegen Insulin beim Menschen durch eine Verunreinigung der Insulinpräparate durch Proinsulin hervorgerufen wird. Es wäre somit möglich, daß reine Rinder- und Schweineinsuline keine Antigene darstellen und dann keine Antikörperbildung hervorrufen.

Über die Regulation der Insulin-Biosynthese ist noch nichts bekannt. Wahrscheinlich besitzt die Inselzelle selbst die Information, Insulin neu herzustellen, wenn Insulin sezerniert wird und damit der Hormongehalt der Zelle abnimmt.

Für die Sekretion werden zwei Mechanismen diskutiert. LACY (1967) konnte mit Hilfe des Elektronenmikroskops zeigen, daß die das Insulin enthaltenden Granula der B-Zellen im Verlaufe der Hormonsekretion vom Zentrum an die Peripherie der Zelle wandern. Dort vereinigt sich die Granulamembran mit der Zellmembran, und der Granulainhalt wird durch Emeiozytose in die extrazelluläre Flüssigkeit herausgestülpt. Nach neuesten Untersuchungen erfolgt dabei die Bewegung der Granula in der Zelle entlang von mikrotubulären Gebilden, die möglicherweise von kontraktilen Filamenten umgeben sind (LACY).

Es gibt Hinweise dafür, daß 3',5'-Adenylsäure (zyklisches Adenosin-Mono-Phosphat) am Mechanismus der Insulinausschüttung beteiligt ist (MALAISSE 1967; LAMBERT 1967).

Nach neueren Untersuchungen soll es noch einen zweiten Mechanismus der Insulinausschüttung geben, der vor allem für die rasche Abgabe von Insulin von größerer Bedeutung ist als die Emeiozytose (A. LABHART).

3) Die Regulation der Insulinsekretion

Bis vor wenigen Jahren schien festzustehen, daß der Insulin-Sekretionsvorgang einfach durch die Höhe des Blutzuckers gesteuert wird. Es ist jedoch eine Reihe von Substanzen gefunden worden, welche die Insulinsekretion ebenfalls fördern, sowie andere, die sie hemmen.

Seit den Untersuchungen von CONRAD über die Glucose-assimilation schien erwiesen zu sein, daß die Insulinsekretion durch perorale Verabreichung von Glucose stärker gesteigert wird als nach intravenöser Verabreichung.

SAMOLS(1965) und KETTERER(1967) haben festgestellt, daß Glucagon die Insulinsekretion stimuliert, bevor der Blutzucker ansteigt. Nach einer peroralen Glucosegabe scheint zuerst Glucagon sezerniert zu werden und erst danach Insulin(SAMOLS 1965). Ob Sekretin noch vor das Glucagon geschaltet ist, bedarf noch der Klärung. Jedenfalls bewirkt intravenös appliziertes Sekretin ebenfalls eine Insulinausschüttung(DUPRE' 1966). UNGER(1967) nimmt sogar eine Kette gastrointestinaler Wirkstoffe an(Pankreozymin, Gastrin, Sekretin, Glucagon), die die Insulinsekretion in Gang bringen.

Als Stimulatoren der Insulinsekretion könnten neben der Glucose die Aminosäuren eine physiologische Rolle spielen. Vom Leucin weiß man, daß es die Insulinsekretion stimuliert und Hypoglykämien auslösen kann(SCHWARTZ).

Eine Mischung von Aminosäuren und auch einzelne Aminosäuren - der Stärke nach absteigend sind dies Arginin, Lysin, Leucin, Phenylalanin, Valin und Methionin - stimulieren die Insulinsekretion(FAJANS).

Aber nur Leucin bewirkt eine Hypoglykämie. Die Wirkung der anderen Aminosäuren wird im Gegensatz zu derjenigen von Leucin durch Vorbehandlung mit Sulfonylharnstoffen nicht verstärkt, sondern vermindert. Leucin und die anderen genannten Aminosäuren stimulieren die Insulinsekretion offenbar über verschiedenartige Mechanismen. Glucose und Arginin potenzieren sich in ihrer Wirkung auf die B-Zellen.

Der hauptsächlichste physiologische Stimulus der Insulinsekretion ist beim Menschen die Glucose.

Allerdings verhindern Adrenalin und Noradrenalin eine adäquate Insulinausschüttung auf Glucose, wobei noch unsicher ist, ob es sich hierbei um eine physiologische oder bereits pharmakologische Wirkung der Katecholamine handelt (PORTE).

Andererseits hemmen β -Rezeptorenblocker wie Propanolol die Insulinsekretion.

Eine Hypokaliämie kann ebenfalls zu einer Sekretionsverminderung der Inselzellen führen. So wird die Verringerte Glucosetoleranz bei Patienten mit Aldosteronismus auf die begleitende Hypokaliämie zurückgeführt (GRODSKY).

Pentosen und Pentitole fördern die Insulinsekretion. Es wird angenommen, daß diese Zucker in den Pentosephosphat-Weg der B-Inselzellen eingeschleust werden und die für die Insulinsekretion notwendige Energie liefern (KUZUYA; HIRATA).

Einen auch in Experimenten verwendeten Hemmstoff der Insulinsekretion stellt die Mannoheptulose dar, die anderweitig keinen Einfluß auf den Stoffwechsel ausübt (SIMON).

4) Inaktivierung des Insulins im Organismus

Insulin wird in der Peripherie nach Erfüllung seiner Aufgaben nicht zerstört. Intaktes Fettgewebe als eines der hauptsächlichsten Endorgane der Insulinwirkung inaktiviert kaum, jedenfalls sehr langsam wie auch der intakte Muskel das Insulin (PIAZZA).

Dennoch ist die biologische Halbwertszeit des Insulins sehr kurz, bei der Ratte um 3 min (BÜRGI), etwa 20 min beim Hund (CAMPBELL), und beim Menschen ähnlich wie beim Hund (WELSH; CERASI).

Insulin wird vornehmlich in der Leber durch die Insulin-Glutathion-Transhydrogenase in A- und B-Ketten aufgespalten (TOMIZAWA). Dieses Enzym ist auch in der Niere vorhanden, welche zur raschen Inaktivierung des Insulins beiträgt. Kleine Mengen werden auch in die Galle ausgeschieden (DANIEL). In der Niere wird Insulin durch die Glomerula filtriert und fast völlig rückresorbiert. Immerhin werden ca 1 % der sezernierten Insulinmenge unverändert im Urin ausgeschieden (CHAMBERLAIN).

Die biologische Halbwertszeit des Insulins ist bei Menschen, die über einen längeren Zeitraum mit Insulin behandelt wurden, verlängert (WELSH). Die im Blut dieser Menschen gebildeten Antikörper fixieren Insulin, so daß es der Spaltung durch die Insulin-Glutathion-Transhydrogenase entgeht. Es kann dann eine protrahierte Wirkung resultieren, wenn es allmählich aus seiner Antikörper-Bindung freigesetzt wird (FANKHAUSER; CROUGHS).

5) Insulin im Blut

Da Insulin in neutraler Lösung Polymere bildet, wird angenommen, daß es im Blut als Dimer oder Tetramer zirkuliert. Bisher wurden keine spezifischen Trägersubstanzen für das Insulin gefunden, obwohl die γ -Makroglobuline eine Zeit lang als solche angesehen wurden (ZAHND 1963).

Insulin im Blut kann biologisch am Fettgewebe in vitro gemessen werden. Das immunoreaktive Insulin im Serum entspricht der mit Antikörpern hemmbaren Insulinaktivität im Fettgewebe (FROESCH).

Die Normalwerte bei nüchternen Versuchspersonen liegen zwischen 0 und 40 E Insulin/ml Serum, im Durchschnitt bei etwa 20 E/ml. Das immunoreaktive Insulin steigt nach einmaliger intravenöser Glucoseinjektion rasch an und erreicht nach 2-5 Minuten ein Maximum um 100 E/ml und fällt 30-60 min post injectionem auf den Ausgangswert ab (SAMOLS).

Der Insulinspiegel im Serum hängt unter anderem vom Körpergewicht und vom Alter ab. Übergewichtige Menschen mit normaler Glucosetoleranz zeigen häufig einen übermäßigen Anstieg des Insulins nach Verabreichung von Glucose (KARAM).

Es sei darauf hingewiesen, daß das Serum (nach FROESCH) noch weitere biologisch "insulinähnliche" Proteine enthält, die die Glucoseaufnahme in vitro an Muskulatur und Fettgewebe erhöhen und z.T. auch von Glucose unabhängige Insulinwirkungen zeigen. Darunter wird die "nicht hemmbare" oder auch "atypische" Insulinaktivität des Serums (IA) verstanden (FROESCH 1967). Sie wurde so genannt, weil sie sich durch

Antikörper gegen Insulin nicht hemmen läßt und sich in immunologischer Hinsicht anders verhält als Insulin.

Ein kleines Protein mit nicht hemmbarer Insulinaktivität mit einem Molekulargewicht von ca 6000 ist aus dem Serum extrahiert worden (BÜRGI). Es hat alle Wirkungen des Insulins auf das Fettgewebe und scheint, verglichen mit Insulin, die Glucoseaufnahme des Muskels mehr zu stimulieren als die des Fettgewebes (FROESCH; OELZ 1970). Das gereinigte Molekül mit nicht hemmbarer Insulinaktivität enthält weder A- noch B-Kette und wahrscheinlich weniger Disulfidbrücken als Insulin. Nach LABHART ist dieses Molekül insofern interessant, als seine Strukturaufklärung helfen könnte, das biologisch aktive Zentrum des Insulins zu finden.

6) Die Wirkung des Insulins

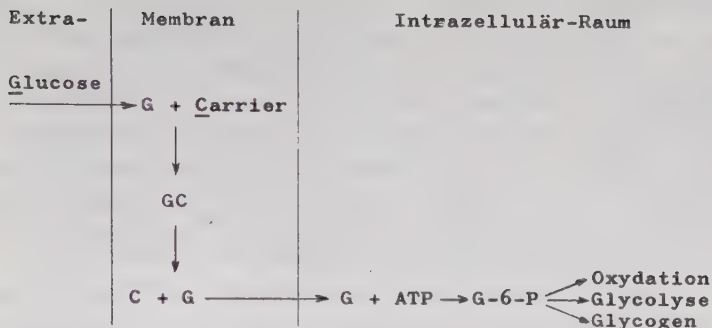
a) auf den Glucosetransport.

Insulin gilt als Prototyp eines Hormones, das auf Membraneigenschaften einwirkt. Wie R. LEVINE 1955 zeigte, beruht die Hauptwirkung dieses Hormones auf einer Erhöhung des Glucosetransportes von der extrazellulären in die intrazelluläre Flüssigkeit.

Eingehend untersucht wurde diese Insulinwirkung auf den Glucosetransport an der Muskel- und Fettgewebszelle (PARK; CROFFORD; MORGAN; WILBRANDT).

An beiden Geweben erfolgt der Transport der Glucose durch die Zellmembran mittels eines noch nicht genau identifizierten Trägers, der sich auf der einen Seite der Membran mit der Glucose verbindet und sie auf der anderen Seite ins Zellinnere abgibt.

Dieser Vorgang wird aus der folgenden schematisierten Darstellung nach R. LEVINE ersichtlich.



Charakteristisch für Trägertransporte(=Carrier systems) dieser Art sind folgende Eigenschaften:

- 1) Es besteht eine enge stereochemische Spezifität des Trägers für das Substrat. So wird D-Glucose über den Trägermechanismus transportiert, L-Glucose nicht.
- 2) Trägertransporte zeigen eine sog "Sättigungskinetik" und unterscheiden sich dadurch grundlegend von Transporten durch reine Diffusion.
- 3) Trägertransporte können ohne Energieverbrauch ablaufen(sog. "facilitated diffusion").

Wird Substrat gegen einen Energie- oder Konzentrationsgradienten transportiert, muß der Trägertransport an einen energieproduzierenden Prozeß gekoppelt sein. Man spricht dann von einem "Pumpenmechanismus".

- 4) Unter geeigneten experimentellen Bedingungen wird ein Gegen- oder "Hill-up"-transport beobachtet, d.h. Substrat wird gegen einen Konzentrationsgradienten, nicht aber gegen einen Energiegradienten transportiert. Diese Kriterien gelten für den Glucosetransport in Erythrozyten, Muskel- und Fettgewebe(WILBRANDT; PARK; CROFFORD).

Die Wirkung des Insulins auf den Glucosetransport setzt unmittelbar ein, wenn Insulin mit der intakten Zelle in Kontakt tritt. Sie hört sofort auf, wenn Insulin durch Anti-Insulinserum neutralisiert wird(FROESCH).

Insulin beschleunigt den den Transport der Glucose des

Fettgewebes in vitro schon in Konzentrationen von 1 - 10E/ml, also bei Insulinkonzentrationen, die beim Menschen nur im Hungerzustand im Serum gefunden werden. Wird der Glucose-transport des Fettgewebes und des Muskels in vitro durch Insulin maximal beschleunigt, so kann die Glucosephosphorylierung in der Zelle limitierend für den Gesamtumsatz werden, und Glucose findet sich in freier Form intrazellulär (FROESCH; MORGAN). Unter Physiologischen Bedingungen ist dieser Fall beim Menschen nicht wahrscheinlich.

Insulin wird vor allem nach Einnahme von Glucose und Polysacchariden in das Blut abgegeben und sorgt dafür, daß die in Ruhe aufgenommene Glucose nicht sogleich verbrannt sondern vielmehr gespeichert wird. Die Regulation der Glucoseaufnahme durch das Insulin ist derjenigen durch die Muskelentgegengesetzt. Hier wird sie bestimmt durch ein zusätzliches Angebot an Glucose, welche gespeichert werden soll, dort durch einen erhöhten Energiebedarf der Zelle.

Die fördernde Wirkung auf den Glucosetransport in die Zelle ist die augenfälligste Insulinwirkung, da sie eine wichtige Rolle spielt in Bezug auf die Stabilisierung des Blutzuckerniveaus. Es gibt jedoch noch eine Reihe von Insulinwirkungen, die weitgehend glucoseunabhängig sind.

b) Von Glucose unabhängige Insulinwirkungen

Insulin fördert den Eintritt von Aminosäuren in die Muskel- und Fettzellen und den Einbau in das Eiweiß (MANCHESTER; SCHARFF; CARRUTHERS; KRAHL).

Die Kaliumaufnahme der Zelle wird allerdings nur in Anwesenheit von Glucose gesteigert. Diese Tatsache erlangt besondere Bedeutung in der Therapie des Coma diabeticum mit hohen Insulindosen.

Besonders wichtig für die Betrachtung des Diabetes mellitus ist die antilipolytische Wirkung des Insulins. Am Rattenfettgewebe hemmt das Insulin in vitro die Abgabe von Glycerin und freien Fettsäuren ganz unabhängig davon, ob Glucose im Medium vorhanden ist oder nicht (FROESCH; JUNGAS; MAHLER). Es ist anzunehmen, daß die Triglyceridlipase, welche die Lipolysegeschwindigkeit bestimmt, durch Insulin gehemmt wird.

Die Beeinflussung des Glycogenstoffwechsels stellt man sich folgendermaßen vor:

Insulin hemmt die Phosphorylase und aktiviert die Glycogensynthetase in der Weise, daß bei Fehlen von Glucose im Medium das Glycogen weniger rasch abgebaut wird und in Anwesenheit von Glucose rascher aufgebaut wird (JUNGAS; FROESCH). Man nimmt an, daß Insulin, das selbst nicht in die Zelle eindringt, einen Wirkstoff aus der Membran in die Zelle freisetzen könnte, welcher dann seinerseits die Aktivität dieser in der Zelle an Strukturen gebundenen Enzyme beeinflussen könnte.

So hat BUTCHER 1966 festgestellt, daß Insulin die Adenylcyclase hemmt, welche ATP in zyklisches 3',5'-AMP, den sogenannten "second messenger", umwandelt.

Das zyklische 3',5'-AMP fördert ganz allgemein alle Prozesse, welche Energie zur Verfügung stellen, d.h. die Lipase und die Phosphorylase. Eine Hemmung der Bildung von zyklischem 3',5'-AMP würde im Gegensatz dazu die Speicherung von Glycogen und Fett fördern.

So würde Insulin zusätzlich zu seiner speichernden Wirkung über die vermehrte Glucoseaufnahme den intrazellulären Abbau von Glycogen und Fett vermindern.

c) Wirkung des Insulins auf die Eiweißsynthese

Während die Glucosetransporttheorie sowie die Wirkungen des Insulins auf die Lipolyse, auf Glycogenstoffwechsel und Eiweißsynthese experimentell gesichert sind, so sind die eigentlichen Wirkungsmechanismen noch keineswegs geklärt.

Insulin ist mit wenigen Ausnahmen nur an der intakten Zelle wirksam. Es fördert ganz allgemein die Synthese der Enzyme, die für die Speicherung von Glucose als Glycogen und Fett entscheidend sind, es hemmt die Bildung der Enzyme in der Leber, die die Gluconeogenese bestimmen. Dies sind im wesentlichen die Glucose-6-Phosphatase, Fructose-1,6-Diphosphat, Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase, Pyruvat-Carboxylase. Es ist indessen noch nicht gelungen, mit Sicherheit nachzu-

weisen, daß Insulin die Enzymsynthese direkt beeinflusst. Es gibt Hinweise dafür, daß einige Auswirkungen auf Enzyme Folgen der primären Insulinwirkung auf die Zellmembran sind (Glucosetransport, Adenylzyklase).

Nach WOOL, der 1965 und 1967 erstmals einen Insulin-effekt an Zellbestandteilen, den Ribosomen, gezeigt hat, verändert Insulin die Übersetzung der genetischen Information in die Eiweißsynthese am Ribosom. Nach WOOL soll Insulin am Ribosom die Synthese eines "spezifischen" Eiweißes anregen, das seinerseits in einer Kettenreaktion die Synthese weiterer Eiweißmoleküle und Enzyme bewirken könnte.

d) Die Insulinwirkung auf die Leber

Man glaubte nach Experimenten an Leberschnitten von RENOLD noch 1955, daß Insulin an der Leber keine direkte Stoffwechselwirkung entfaltet.

Als CAHILL 1958 herausgefunden hatte, daß die Leberzelle noch nicht einmal ein "carrier system" für Glucose zu besitzen scheint, da der Glucosegehalt der Leberzelle weitgehend dem des Serums entspricht, schien diese Annahme noch erhärtet.

Verschiedenen Forschergruppen (COMBES 1961; DE BODO 1963; MADISON 1965) gelang dann der Nachweis, daß Insulin in vivo wie auch in der in vitro durchströmten Leber den Glucose-"output", die Gluconeogenese und die Harnstoffproduktion vermindert. Dennoch besitzt der von S. WEINHOUSE 1963 geprägte Satz auch heute seine Gültigkeit: "Though insulin is doubtlessly involved in hepatic glucose metabolism, the magnitude of its effects and the mechanisms and sites of its action are still uncertain".

Daß Insulin jedoch im weiteren Sinne den Glucosestoffwechsel der Leber erheblich beeinflusst, indem es die Glycogensynthese reguliert, geht aus zahllosen Versuchen an Diabetikern, alloxandiabetischen Ratten und an Patienten mit schweren Leberschäden (Cirrhose) hervor.

- 1) MEYTHALER und STAHNKE fanden nach Einpflanzung der vena pancreatico-duodenalis in die vena renalis ein Absinken des Blutzuckers und permanente Hypoglykämie.
- 2) Versuchsanordnungen unter Euglykämie führten bei Insulinbelastung zu einer Vermehrung des Leberglycogen-vorrats.
- 3) Die diabetische, glycogenverarmte Leber reagiert auf Insulingaben mit prompt einsetzender Glycogeneinlagerung. Bei der nicht-diabetischen Leber ist Insulin nur scheinbar wirkungslos, da hier bereits optimale Glycogenreserven geschaffen sind.
- 4) Die in der Zeiteinheit abgegebene Glucosemenge (Glucose-output) aus der Leber nimmt unter Insulin ab.
- 5) CRAIG, DRUCKER, MILLER und WOODWARD berichteten über Versuchsergebnisse an Patienten, bei denen wegen Lebercirrhose eine porto-cavale Anastomose angelegt worden war. Hierbei mußten Differenzen zwischen arteriellem Blut und Lebervenenblut eine isolierte Funktion der Leber widerspiegeln. Auch unter exogenem Insulin wurde ein signifikanter Abfall des Blutzuckerspiegels im Lebervenenblut beobachtet.

Der Mechanismus dieser hepatischen Insulinwirkungen ist, wie oben schon ausgeführt wurde, noch nicht geklärt.

Da sie durch Stoffe, welche die Eiweißsynthese blockieren, gehemmt werden, wird angenommen, daß das Insulin die Synthese und Neubildung von Enzymen fördert und daß es auf diesem Wege den Stoffwechsel der Leber beeinflusst (SOLS).

Als Glied eines komplizierten Systems hormonaler Steuerungsmechanismen ist das Insulin eingebaut in ein Netz homöostatischer und kompensatorischer Zügelungsvorgänge, welche die Aktivität des Insulins, sobald es zur Wirkung gelangt, auf ein optimales Mittelmaß einregulieren.

Die vom Insulin auf der Höhe seiner Wirkung in Gang gesetzten Gegenregulationen sind ungewöhnlich vielseitig, ein Beweis dafür, von welcher entscheidenden Bedeutung für den Gesamtorganismus die Aufrechterhaltung eines konstanten Blutzuckerspiegels und die Ausschaltung von Schwankungen

im Kohlenhydratumsatz sind.

Die auf Insulinausschüttung oder eine Blutzuckersenkung unter den Normalwert schlagartig einsetzenden Gegenregulationen sind so intensiv, daß die Wirkung von injiziertem Insulin um so kürzer und geringfügiger ausfällt, je tiefere Werte die initiale Hypoglykämie erreicht.

Die gleiche Insulindosis, die bei Hyperglykämie ausschließlich blutzuckersenkend wirkt, läßt bei normalem oder herabgesetztem Blutzuckerausgangswert den Blutzuckerspiegel nach anfänglichem Absinken über den Ausgangswert ansteigen (KÜHNAU).

Die Natur dieser die Insulinwirkung zügelnder hormonalen Faktoren ist außerordentlich komplex.

Im wesentlichen sind daran beteiligt das Hormon der A- Zellen des Inselapparats, das G L U C A G O N, das Adrenalin die Glucocorticosteroid-Hormone und die Hypophyse. Diese alle besitzen eine insulin-antagonistische Qualität im Hinblick auf die Homöostase des Blutzuckerspiegels.

B. Das G L U C A G O N

Nach Insulininjektionen kann man in den ersten Minuten vor dem Abfall des Blutzuckers einen vorübergehenden Anstieg um 10 - 20 mg% beobachten. Diese Erscheinung der "initialen Hyperglykämie" war bereits kurze Zeit nach der Entdeckung des Insulins u.a. MCLEOD aufgefallen. MURLIN führte schon 1923 dieses "paradoxe" Phänomen auf ein zweites Pankreashormon zurück. Er trennte einen hyperglykämisierenden Wirkstoff von Insulinpräparaten ab und nannte ihn Glucagon.

BÜRGER zeigte 1928, daß die hyperglykämisierende Wirkung nicht auf einem Adrenalineffekt beruhen kann. Denn auch noch nach Ausschaltung der Nebennierenrinde war ein initialer Anstieg des Blutzuckerspiegels zu beobachten.

Bei Verwendung hochgereinigter Insuline blieb jedoch der Blutzuckeranstieg aus, ebenfalls nach Hepatektomie.

Damit war der Beweis erbracht, daß der Inselzellapparat des Pankreas nicht allein Bildungsort des Insulins, sondern auch eines zweiten in den Kohlenhydratstoffwechsel eingreifenden Hormones ist.

Glucagon wurde später aus Insulinpräparaten und Pankre-
asextrakten angereichert. 1953 gelang die Kristallisation
des Glucagons (STAUB; SINN; BEHRENS) und 1956 klärte BROMER
die Struktur auf.

Glucagon ist nach ACTH und Insulin das dritte Peptid-
hormon, das synthetisch hergestellt wurde.

1) Die Chemie des Glucagons

Die Bauchspeicheldrüse enthält nur etwa 5 bis 10 mg
Glucagon pro Kg Feuchtgewicht oder nur ca 10 bis 20 % ihres
Gehaltes an Insulin (SAMOLS).

Glucagon besteht aus einer Kette von 29 Aminosäuren
ohne Disulfidbrücke. Auch mehrfach gereinigtes Glucagon ent-
hält immer noch kleine Mengen Insulin, das sich mit den übli-
chen eiweißchemischen Methoden nicht abtrennen läßt.

Insulinkontaminationen lassen sich allerdings durch
Inkubation in Alkali oder mit reduzierten SH-haltigen Che-
mikalien wie Glutathion inaktivieren.

2) Entstehungsort des Glucagons

Die Synthese dieses Hormones findet statt in den
A- Zellen des Pankreas. Eine Ligatur des Ductus pankreaticus
und Atrophie des exokrinen Gewebes führt nicht zum Unter-
gang der A- Zellen.

Auch nach Zerstörung der B- Zellen durch Alloxan ist
noch immer Glucagon aus der Bauchspeicheldrüse extrahierbar.
Eine A- Zellschädigung mittels Cobalt-Chlorids hat ein
graduelles Verschwinden der Glucagonaktivität zur Folge.

Eine dem Glucagon ähnliche Substanz kann auch aus dem Magen-Darm-Trakt gewonnen werden. Intestinales Glucagon ist immunchemisch und biologisch verwandt aber nicht identisch mit pankreatischem Glucagon (UNGER). Argyrophile Zellen im Darm, die den A-Zellen der Bauchspeicheldrüse ähnlich sehen, werden als Produktionsstätten des intestinalen Glucagons vermutet.

Darmglucagon scheint ein größeres Molekulargewicht als pankreatisches Glucagon zu haben (UNGER). Es reagiert mit Antikörpern der meisten Tiere, die mit pankreatischem Glucagon immunisiert wurden. Es gibt aber bereits Antikörper, die beide Glucagonarten auseinanderhalten können und nur mit dem einen oder dem anderen reagieren.

3) Das Glucagon im Stoffwechsel

Das Vorhandensein zweier oder mehrerer verschiedener glucagonähnlicher Substanzen im Serum stellt die meisten früheren Befunde in Frage, die unter Voraussetzung eines einzigen pankreatischen Hormons gesammelt und entsprechend interpretiert wurden.

Mit neuesten immunochemischen Methoden gemessen, soll die Glucagonkonzentration im peripheren Blut zwischen 0,5 und 6 $\mu\text{g/ml}$ Serum betragen (WEINGES 1968). Glucagon wirkt in einer Konzentration von 1,0 $\mu\text{g/ml}$ bereits glycogenolytisch auf die Leber (SOKAL). Die im Blut gefundenen und auf die Leber wirksamen Konzentrationen dieses Hormons stimmen mehr oder weniger überein.

Glucagon wirkt nur kurze Zeit auf die in vitro perfundierte Leber. Vermutlich wird es von der Leber rasch inaktiviert und abgebaut. Es scheint eine nur kurze noch nicht genau bekannte Halbwertszeit zu haben.

Nach intravenöser Injektion von Glucagon steigt der Blutzucker während ca 20 bis 30 Minuten an und fällt nachher wieder ab. Die Wirkungsdauer entspricht damit weitgehend der des Insulins.

Glucagon besitzt drei wesentliche Angriffspunkte im Organismus. Der wichtigste ist die Stimulation der Glycogenolyse in der Leber.

Durch Glucagon wird die inaktive Phosphorylase "b" in die aktive Phosphorylase "a" übergeführt, so daß Glycogen rasch abgebaut und als Glucose von der Leber in das Blut abgegeben werden kann (E.W. SUTHERLAND 1951 und 1965).

Es scheint, daß das Glucagon aus dem Pankreas der eigentliche physiologische Gegenspieler des Insulins ist (FOA). Bei Blutzuckerabfall steigt pankreatisches Glucagon im Pankreasvenenblut und im peripheren Blut an und bewirkt dadurch einen Wiederanstieg des Blutzuckers auf normale Werte (UNGER 1968). Nach SOKAL ist Glucagon weit wirksamer als Adrenalin und Noradrenalin, die über den gleichen Wirkungsmechanismus ebenfalls glycogenolytisch wirken.

Vor einigen Jahren schon haben Beobachtungen von SAMOLS die These erschüttert, daß Glucagon ausschließlich der Gegenspieler des Insulins sei. Wird Glucagon rasch intravenös injiziert, kommt es zu einem Anstieg der Insulinkonzentration im Blut, bevor der Blutzucker ansteigt (SAMOLS 1965). Nach Verabreichung von Glucose kommt es nach diesem Autor zuerst zu einem Anstieg der Glucagonkonzentration im Blut und erst dann zur Insulinausschüttung. Danach wäre das Glucagon weniger der Gegenspieler als vielmehr ein Stimulator der Insulinsekretion, was durch VECCHIO 1966 durch die Beobachtung bestätigt zu werden schien, daß Glucagon auch in vitro die Insulinsekretion stimuliert.

Seitdem aber die Unterscheidung zwischen pankreatischem und gastrointestinalem Glucagon möglich geworden war, gab es jedoch Befunde, die zeigten, daß der Glucagonanstieg im Blut nach Glucose auf eine vermehrte Sekretion des enteralen Glucagons und nicht des pankreatischen Glucagons zurückzuführen ist (UNGER). Andere Untersuchungen ergaben, daß ein Glucagonanstieg nur nach peroraler Verabreichung von Glucose, nicht aber nach i.v.-Applikation beobachtet wurde. Es wäre denkbar, daß die Ausschüttung enteralen Glucagons

für die wesentlich größere Insulinausschüttung nach peroraler Glucosezufuhr als nach intravenöser Glucoseverabreichung verantwortlich ist.

Ob allerdings dieses nach Glucosezufuhr ausgeschüttete gastroenterale Glucagon eine andere physiologische Wirkung hat als pankreatisches Glucagon, ist noch nicht geklärt. Nach UNGER soll das enterale Glucagon in glycogenolytischer Hinsicht weniger aktiv sein als pankreatisches Glucagon.

Die dritte Wirkung des Glucagons im Organismus betrifft das Fettgewebe. Glucagon ist ein lipolytisches Hormon, das bereits in physiologischen Konzentrationen die Freisetzung der Fettsäuren aus dem Fettgewebe einleitet. In dieser Beziehung besteht also ein echter Antagonismus zum Insulin, das antilipolytische Eigenschaften besitzt. Während das Insulin die Speicherung der aufgenommenen Nahrungsmittel in Form von Glycogen und Fett fördert, besorgt Glucagon deren Mobilisation als Glucose und freie Fettsäuren (LEFEBRE; WEINGES).

a) Der Wirkungsmechanismus des Glucagons

Der Wirkungsmodus des Glucagons scheint an Inselzellen, Leber und Fettgewebe derselbe zu sein. Er entspricht in Bezug auf die Glycogenolyse auch weitgehend dem des Adrenalin. Während die glycogenolytische Wirkung des Adrenalins Skelettmuskulatur und Leber gleichermaßen betrifft, beschränkt sich der Effekt der Glycogenolyse über eine Phosphorylase-Aktivierung durch Glucagon auf die Leberglycogenreserven.

Die Glycogenphosphorylase katalysiert unter physiologischen Bedingungen den Glycogenabbau. Sie liegt im Skelettmuskel und in der Leber in einer größtenteils inaktiven Form vor. Die inaktive Phosphorylase "b" im Muskel ist ein Dimer aus zwei wahrscheinlich gleichen Polypeptidketten. Bei der Aktivierung wird in jeder Kette ein Serinrest mit einer endständigen Phosphatgruppe des ATP verestert. Gleichzeitig verdoppelt sich das Molekulargewicht durch den

Zusammenschluß zweier Phosphorylase "b" - Moleküle, so daß die Aktivierungsreaktion nach E.G.KREBS folgendermaßen lautet:

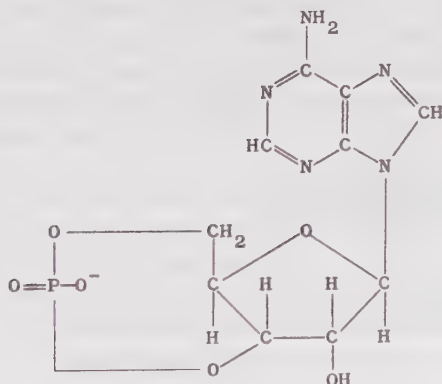


Das zu dieser Reaktion benötigte Enzym Phosphorylasekinase wird seinerseits erst durch zyklisches Adenosin-3',5'-Monophosphat aktiviert in Gegenwart von Mg^{++} -Ionen.

Aber erst das Glucagon (und auch Katecholamin) aktiviert die A d e n y l c y c l a s e, welche für die Bildung von zyklischem AMP verantwortlich ist (SUTHERLAND).

Nach der Konzeption von E.W.SUTHERLAND ist damit das Hormon in der extrazellulären Flüssigkeit der "erste Bote". Durch den Kontakt zwischen Hormon und Adenylcyclase wird das Ferment aktiviert und zyklisches AMP gebildet, welches als "zweiter Bote" (second messenger) intrazellulär die Hormoneffekte vermittelt.

Die Strukturformel des Nucleotids, der zyklischen 3',5' - Adenylsäure läßt sich wie folgt darstellen:

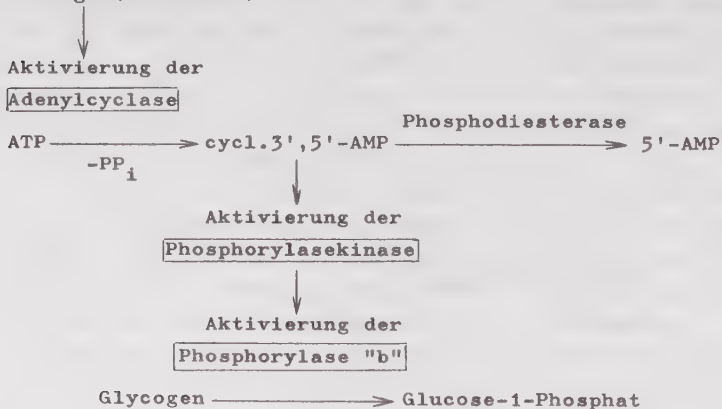


Die Adenylcyclase scheint in allen untersuchten Geweben fest an membranöse Strukturen, wahrscheinlich an die Zellmembran, gebunden zu sein. Bisher ist eine Reinigung von hormonempfindlichem Enzym von der Zellmembran getrennt noch nicht gelungen. Dieser Umstand stützt zwar die Hypothese von G.A. ROBISON (1967), daß die β -Rezeptoren mit der Adenylcyclase möglicherweise identisch sind, insgesamt sind hier aber noch zu viele Fragen ungeklärt. Immerhin scheint die Phosphorylaseaktivierung in der Skelettmuskulatur spezifisch für β -Rezeptoren zu sein, was aus der Hemmbarkeit mittels β -Rezeptorenblockern und der Wirkungslosigkeit von α -Rezeptorenblockern hervorgehen könnte (ALI; HORN BROOK u. BRODY).

Inaktive Leberphosphorylase "b" wird über den grundsätzlich gleichen Mechanismus in die aktive Phosphorylase "a" umgewandelt. Sie unterscheidet sich von der Muskelphosphorylase dadurch, daß sich das Molekulargewicht bei der Kinase-reaktion nicht ändert.

Es folgt eine schematische Darstellung des Reaktionsablaufes zur Aktivierung der Glycogenphosphorylase nach SUTHERLAND:

Glucagon (Adrenalin)



Diese Phosphorylase "a" ist nun verantwortlich für die Abspaltung der randständigen Glucosereste des Glycogens und deren Umwandlung in Glucose-1-Phosphat.

Nach SOKAL könnte es sein, daß die Aktivierung der Phosphorylase die eigentliche physiologische Wirkung des Glucagons und nicht des Adrenalins ist. Während Glucagon in sehr kleinen physiologischen Dosen die Glycogenolyse stimuliert, werden zur Erzielung desselben Effektes vom Adrenalin pharmakologische Dosen benötigt.

Aus Glucose-1-Phosphat kann nun mittels der Phosphoglucomutase rasch Glucose-6-Phosphat gebildet werden.

Da die Phosphoglucomutase in Wirklichkeit aus einem Phospho- und einem Dephospho-Enzymanteil besteht (V.A. NAJJAR; MCCOY), und Glucose-1,6-Diphosphat als Reaktionsteilnehmer identifiziert werden konnte (SUTHERLAND; LEOIR), sieht die Reaktion so aus:

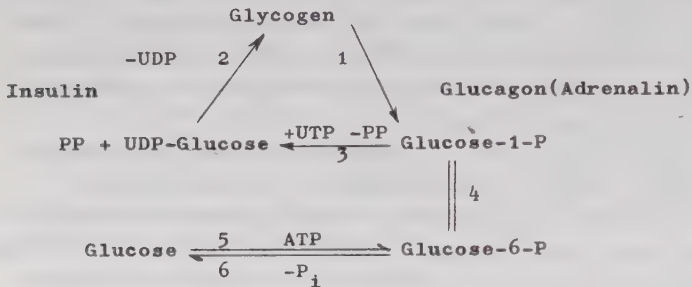


Dem Glucose-6-Phosphat stehen nun verschiedene Stoffwechselwege offen. Wird im Sinne einer akuten Blutzuckerregulation freie Glucose benötigt, kann diese mittels der Glucose-6-Phosphatase aus Glucose-6-Phosphat freigesetzt werden. Ist jedoch freie Glucose in ausreichender Menge vorhanden, kann diese mittels der unspezifischen Hexokinase zu Glucose-6-Phosphat phosphoryliert werden. Über die Mutase-Reaktion kann nun auch wieder Glucose-1-Phosphat entstehen, das der Glycogenassimilation zur Verfügung steht. In diesem Falle wird mit Hilfe des Uridintriphosphates und des Enzyms Uridindiphosphat-Pyrophosphorylase unter Abspaltung von Pyrophosphat Uridindiphosphat-Glucose (= UDP-G) gebildet.

Daraus kann durch Katalyse des insulinempfindlichen Enzyms Glycogen-UDP-Glucosyltransferase unter Abspaltung von UDP wieder Glycogen synthetisiert werden.



Dieses Stoffwechselgeschehen wird wegen seines zyklischen Charakters auch "Glycogen-Zyklus" genannt und soll in dem folgenden Schema noch einmal im Zusammenhang dargestellt werden:



- 1 Glycogenphosphorylase
- 2 Glycogen-UDP-Glucosyltransferase
- 3 UDP-Pyrophosphorylase
- 4 Phosphoglucomutase
- 5 Hexokinase
- 6 Glucose-6-Phosphatase

Der akuten Blutzuckerregulation durch die Glycogenolyse steht die Gluconeogenese gegenüber, die verantwortlich ist für den Nachschub von Glucose im Hungerzustand und bei Glucosemangel. Als Hauptenergiequelle kommt dann die Fettverbrennung in Frage, während der Anteil der Glucoseverbrennung auf bis zu 10 % des gesamten Calorienumsatzes zurückgeht. Da die Glycogenreserven der Leber schon nach etwa 24 Stunden aufgebraucht sind, muß nun die Leber für die Bereitstellung neuer Glucose mit Hilfe der Gluconeogenese sorgen.

Die hauptsächlichsten Vorläufer der auf gluconeogenetischem Wege gebildeten Glucose sind bestimmte Aminosäuren und das Glycerin. Aminosäuren werden zu Pyruvat oder zu Intermediärprodukten des Citronensäurezyklus des- oder transaminiert und können zu Glucose oder Glycogen aufgebaut werden. Das bei der Lipolyse aus dem Fettgewebe freigesetzte Glycerin ist der weitere wichtige Lieferant der gluconeogenetisch gebildeten Glucose.

Da Glucagon, wie oben beschrieben, die Lipolyse fördert, scheint es auf diese Weise aber später wieder zu verstärkter Gluconeogenese zu führen (EXTON 1966). Ein Anstieg der Fettsäurekonzentration führt ebenfalls zu vermehrter Gluconeogenese (STRUCK).

Mit diesem Abriss über die komplizierten Wirkungsmechanismen von Insulin und Glucagon und ihre prinzipielle Bedeutung für den Glucose- und Glycogenstoffwechsel einerseits sowie für die Gluconeogenese andererseits konnte hier lediglich angedeutet werden, welche eminent wichtige Rolle diesen Hormonen in der Regulation des Glucoseumsatzes schon physiologischlicherweise zukommt.

Wie eingangs schon betont, wird die zum Entgiftungs- und Inaktivierungsvorgang der Glucuronsäurekopplung benötigte Glucuronsäure hauptsächlich in der Leber selbst aus Glucose synthetisiert.

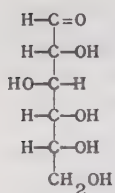
Die Aufgabe des folgenden Abschnittes soll es daher sein, die Synthese und den Verbleib der Glucuronsäure im Säugetierstoffwechsel zu erörtern.

III. Die Glucuronsäure im Säugetierstoffwechsel

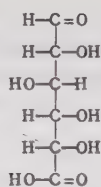
1) Die Glucuronsäuresynthese

Zwischen der D-Glucose und der D-Glucuronsäure besteht ein naher strukturchemischer Zusammenhang. Aber nur formal entsteht D-Glucuronsäure aus D-Glucose durch Oxydation der primären Alkoholgruppe am C-Atom 6 der Glucose.

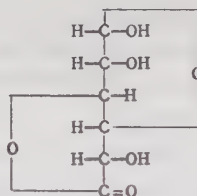
Die D-Glucuronsäure ist in Form von Alkalisalzen zwar durchaus beständig, geht als freie Säure jedoch unter Wasserabspaltung in ein sehr stabiles und gut kristallisiertes γ -Lacton über.



D-Glucose



D-Glucuronsäure

D-Glucuronsäure- γ -Lacton

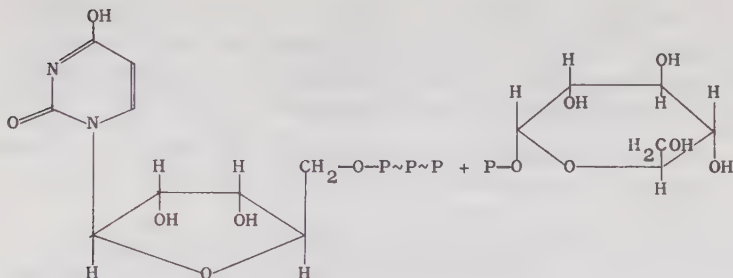
Die labor-chemische Synthese der Glucuronsäure erfolgt ausgehend von der D-Glucose durch katalytische Oxydation mit Sauerstoff am Platinkontakt, nachdem zuvor die gegenüber dem Oxydationsmittel reaktionsfähige und daher störende freie Aldehydgruppe am reduzierenden C-Atom 1 durch Bildung eines Methyl-Glycosids blockiert worden ist. Nach hydrolytischer Abspaltung der blockierenden Gruppe entsteht dann das Lacton der D-Glucuronsäure (K. HEYNS; C. L. MEHLTRETER).

Der Umweg über ein am C-Atom 1 geschütztes Glucose-derivat wird auch von der lebenden Zelle beschritten.

Und zwar wird in der Leber das Glucose-1-Phosphat verwendet. Glucose-1-Phosphat entsteht einmal bei der Glycogenolyse, wo es mittels der Glycogenphosphorylase "a" vom Glycogen abgespalten wird. Zum andern entsteht Glucose-1-Phosphat durch die Phosphoglucomutasereaktion aus Glucose-6-Phosphat,

das seinerseits durch die Phosphorylierung von Glucose mittels Glucokinase und Hexokinase gebildet wird.

Aus dem Glucose-1-Phosphat entsteht zunächst durch Katalyse des Fermentes Uridin-Diphosphat-Glucose-Pyrophosphorylase unter Einbeziehung von Uridintriphosphat (UTP) die Uridindiphosphat-Glucose (UDP-G). Dabei wird Pyrophosphat (PP) frei (MUNCH-PETERSEN et al.).



Uridintriphosphat (UTP)

Glucose-1-Phosphat (G-1-P)

Die Reaktionsgleichung hat demnach folgendes Aussehen:



Diese UDP-Glucose kann nunmehr durch die UDP-Glucose-Dehydrogenase am C-Atom 6 oxydiert werden. NAD dient bei dieser Reaktion als Wasserstoffacceptor, wobei pro Mol UDP-Glucose zwei Mole NAD zu NADH reduziert werden (STROMINGER et al.).



Der biochemische Reaktionsablauf folgt also in der Überführung der primären Alkoholgruppe am C-Atom 6 der D-Glucose in die Carbonsäuregruppe weitgehend den chemisch-syn-

thetisch erforderlichen Schritten.

In Form der UDP-Glucuronsäure liegt die "aktivierte" Glucuronsäure vor, die nun ihre Aufgaben im Stoffwechsel erfüllen kann, deren eine z.B. die Glucuronidbildung mit einem zu konjugierenden Aglycon ist.

2) Der Verbleib der Glucuronsäure

a) Die Glucuronidsynthese

Die UDP-Glucuronsäure fungiert als Glucuronyldonor bei allen Formen der Glucuronidsynthese. Und zwar werden nach der chemischen Struktur vier für die Konjugation wichtige Glucuronidbindungen unterschieden.

1. Die Äther-Bindung zwischen der OH-Gruppe von Phenolen sowie primären, sekundären und tertiären Alkoholen und dem C-Atom 1 der Glucuronsäure.

2. Die Acylester-Bindung z.B. bei der Konjugation von Bilirubin, das ebenfalls über eine Sauerstoffbrücke an das C-Atom 1 der Glucuronsäure gebunden wird. Allerdings stammt in diesem Falle der Sauerstoff nicht aus einer Hydroxylgruppe, sondern aus der Propionsäure-Seitenkette des Bilirubins.

3. Die N-glycosidische Bindung bei der Glucuronidierung einiger aliphatischer und aromatischer Substanzen wie z.B. Anilin, die im Gegensatz zu den vorgenannten spontan und nicht durch eine Glucuronyltransferase katalysiert abläuft (BRIDGES; R.T. WILLIAMS).

4. Die Glucuronidbildung über eine Schwefelbrücke z.B. beim Thiophenol und Mercaptobenzthiazol.

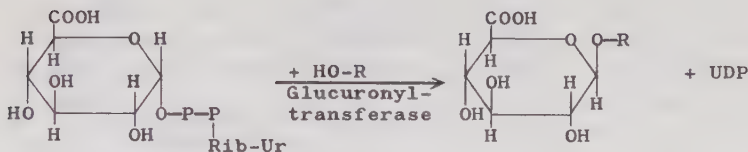
In allgemeiner Formulierung sieht die Glucuronidsynthese wie folgt aus:



Diese irreversible, mit einer α/β -Inversion einhergehende Reaktion wird katalysiert durch die in den Mikrosomen lokalisierte Glucuronyltransferase. Sie wurde in Leber

und Niere(G.L.COHN;G.J.DUTTON),auch im Dünndarm(A.LETHINEN; D.SCHACHTER;K.SCHÜRHOLZ;I.H.STEVENSON u.DUTTON),in der Magenschleimhaut(DUTTON) sowie in der Nebenniere(W.S.NEWCOMER), in der Harnblase(SCHACHTER) und in der Haut(STEVENSON) nachgewiesen.

Die folgende Darstellung verdeutlicht noch einmal den Zusammenhang:

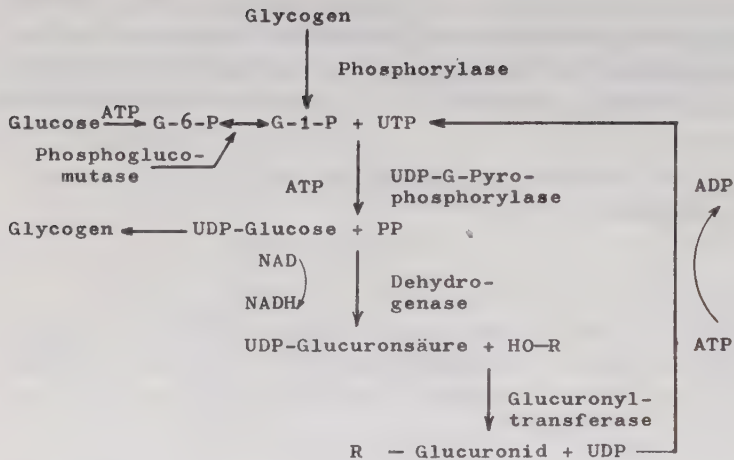


Das bei der Glucuronidsynthese freiwerdende UDP wird in einem Zyklus der Uridinnucleotide mittels der Nucleosiddiphosphokinase mit ATP als Phosphatdonator zu UTP regeneriert, das damit wieder für die Bildung von UDP-Glucose aus Glucose-1-Phosphat zur Verfügung steht(MUNCH-PETERSEN).



Das hierbei entstehende Adenosin-Diphosphat kann in der Atmungskettenphosphorylierung wieder in ATP zurückverwandelt werden.

Der Vorgang der Glucuronsäuresynthese und das Einmünden der UDP-Glucuronsäure in die Glucuronidsynthese, die eine glucuronsäureverbrauchende Reaktion darstellt, werden in der folgenden Übersicht nach HOLLMANN noch einmal zusammengefaßt.



Schematische Darstellung der Glucuronsäure- und Glucuronidsynthese nach HOLLMANN.

b) Die Regulation der Glucuronidsynthese

Der Reaktionsablauf der Glucuronsäurebildung und der anschließenden Glucuronidsynthese kann auf verschiedenen Stufen fördernd oder hemmend beeinflusst werden. Dies geschieht im erwachsenen Organismus und prinzipiell auch beim Neugeborenen durch:

- die Aktivität der beteiligten Enzyme,
- konkurrierende Stoffwechselprozesse,
- unterschiedliches Substratangebot.

Dabei muß hervorgehoben werden, daß Vorgänge, die regulierend in den Glucuronidsynthese-Prozess eingreifen können, zwar weitgehend bekannt sind, in ihrer quantitativen Bedeutung jedoch noch nicht vollständig erfaßt sind.

aa) Einfluß der Enzymaktivitäten

Bis auf die Glucuronyltransferase, die streng partikelgebunden ist und bisher noch nicht vollständig aus der Mikrosomenfraktion gereinigt werden konnte (ISSELBACHER; TOMLINSON u. YAFFE), sind alle an der UDP-Glucuronsäure-Synthese und der Glucuronidbildung mitwirkenden Enzyme im Cytoplasma enthalten.

Die bis zur Stufe der UDP-Glucose katalytisch wirksamen Enzyme Glucokinase, Phosphoglucomutase und UDP-Glucose-Pyrophosphorylase besitzen eine um etwa 2 - 3 Größenordnungen höhere Aktivität als die zur Glucuronsäurebildung und zur Glucuronidsynthese führenden Fermente UDP-Glucose-Dehydrogenase und Glucuronyltransferase (HOLLMANN u. TOUSTER; SCHRÖTER u. EGGELING).

Da stets die langsamste Reaktion einer Kette hintereinander geschalteter Enzymreaktionen die Umsetzungsgeschwindigkeit der ganzen Kette begrenzt, nehmen im Glucuronidierungsprozess die UDP-Glucose-Dehydrogenase und die Glucuronyltransferase die Schlüsselpositionen ein (SCHRÖTER).

Ein Vergleich dieser beiden Enzyme läßt den Schluß zu, daß die Glucuronyltransferase das eigentliche Schlüsselenzym für die Glucuronidsynthese sein muß.

Die UDP-Glucosedehydrogenase katalysiert reversibel und NAD-abhängig die Oxydation von UDP-Glucose zu UDP-Glucuronsäure. Da die intrazelluläre Konzentration von NAD etwa 3 mal höher ist als die Konzentration von NADH (CAIGER et al), liegt das Reaktionsgleichgewicht mehr auf Seiten der UDP-Glucuronsäure. Deren Konzentration bestimmt ebenfalls die Geschwindigkeit der UDP-Glucoseoxydation, sie ist abhängig vom Verbrauch der UDP-Glucuronsäure in der Glucuronyltransferasereaktion.

Die Irreversibilität der Glucuronyltransferasereaktion und die niedrige Enzymkonzentration in der Leberzelle lassen vermuten (SCHRÖTER), daß die Glucuronyltransferase das Schlüsselenzym in der Glucuronidsynthese darstellt.

Einschränkend muß jedoch hinzugefügt werden, daß auch die Konzentration der UDP-Glucuronsäure ein limitierender Faktor sein könnte (SCHRÖTER), sie beträgt nach DUTTON etwa $2 \cdot 10^{-4} \text{ M}$. Damit liegt sie noch unter der Michaeliskonstanten der Glucuronyltransferase von $6 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ (ISSELBACHER et al.; HSIA et al.).

Eine weitere negative Beeinflussung der Glucuronsäure- und Glucuronidsynthese ist noch möglich. Und zwar könnte sie verursacht werden durch

bb) konkurrierende Stoffwechselmechanismen.

So konkurriert schon unter Normalbedingungen die Glycogensynthetase mit der UDP-Glucose-Dehydrogenase um das gemeinsame Substrat UDP-Glucose. Die in der Neugeborenenleber stark erhöhte Glycogensyntheserate (KORNFELD u. BROWN) könnte jedoch die Konzentration der UDP-Glucose soweit erniedrigen, daß die Oxydation von UDP-Glucose zu UDP-Glucuronsäure beeinträchtigt werden kann (TARNOWSKI et al.).

Die Abhängigkeit der UDP-Glucose-Dehydrogenase-Reaktion von der Größe des NADH/NAD-Quotienten und eine Senkung des UDP-Glucuronsäure/UDP-Quotienten könnten sich bei gesteigerter Glycogensynthese negativ auf die Glucuronidierung auswirken (HOHORST et al.; BRODERSEN et al.).

Auch die UDP-Glucuronsäure selbst ist Ansatzpunkt für weitere konkurrierende Stoffwechselwege.

Dies ist einmal die schon besprochene Glucuronidase-Reaktion bei der Glucuronidsynthese. Die UDP-Glucuronsäure kann aber auch durch eine Pyrophosphatase hydrolytisch gespalten werden, wobei über Glucuronsäure-1-Phosphat nach weiterer Dephosphorylierung freie Glucuronsäure entstehen kann, die in der Glucuronidbildung keine Verwendung mehr findet. Ob aber diese Zerstörung der UDP-Glucuronsäure tatsächlich einen wesentlichen hemmenden Einfluß auf die Glucuronidsyntheseleistung der Leber hat und damit an der Genese der Neugeborenenhyperbilirubinämie beim Menschen beteiligt ist, gilt nicht als erwiesen (SCHRÖTER).

Um das Substrat UDP-Glucuronsäure konkurriert neben der Glucuronyltransferase und der UDP-Glucuronsäurepyrophosphatase noch das den ersten Schritt der Mucopolysaccharidsynthese katalysierende Enzym. Nach der Geburt könnte auch durch diesen Stoffwechselweg der Glucuronidierungsreaktion ein Teil der UDP-Glucuronsäure entzogen werden.

Die Glucuronsäure stellt eine wichtige Baugruppe mesenchymaler Strukturen dar. Diese sind u.a. Knorpel, Sehnen, Knochen, Blutgefäße und Bindegewebe (KAO; SCHULTZ-HAUDT). Die Glucuronsäure ist Bestandteil der Hyaluronsäure, der Chondroitinschwefelsäure, der Antigene und der Blutgruppenfaktoren. Chemisch handelt es sich bei den sauren Mucopolysacchariden um Moleküle aus Aminosackern und Glucuronsäure, was am Beispiel der Hyaluronsäure deutlich wird, die ein Glucuronidoacetylglucosamin ist (BERTELSEN; IVERSEN).

Nach der UDP-Glucose und der UDP-Glucuronsäure kann auch ein bereits gebildetes Glucuronid Angriffspunkt für konkurrierende Stoffwechselprozesse werden.

Nach Untersuchungen von LEVY et al. und KARUNAIRATNAM et al., nach denen in der Leber und in der Niere neugeborener Mäuse die β -Glucuronidase erhöht war, wurde vermutet, daß die verminderte Glucuronidsynthese auch bei menschlichen Neugeborenen durch eine gesteigerte Hydrolyse schon gebildeter Glucuronide verursacht werden könnte.

Diese Hypothese wurde dadurch unwahrscheinlich, daß nach Verabreichung von Saccharo-1,4-Lacton, einem spezifischen β -Glucuronidase-Hemmstoff, der postpartale Anstieg der Konzentration an unkonjugiertem Bilirubin nicht beeinflußt wurde (ANKE et al.).

Ebenso wurde in vitro durch Zusatz von Saccharo-1,4-Lacton zu Leberhomogenaten neugeborener Tiere keine Steigerung der Glucuronidsynthese erreicht (BROWN et al.; GRODSKY et al.; LATHE u. WALKER; DUTTON).

Spätere Untersuchungen von SCHRÖTER u. EGGELING an Ratten und von KOLDOVSKY et al. an Mäusen, Kaninchen und Ratten ergaben darüber hinaus eine niedrigere Aktivität der β -Gluc-

uronidase in Leberhomogenaten neugeborener Tiere im Vergleich zu Präparaten erwachsener Tiere. Eine verminderte Hemmbarkeit der β -Glucuronidase durch Saccharo-1,4-Lacton wurde von SCHRÖTER u. EGDELING ausgeschlossen.

So ist letztlich die Bedeutung der β -Glucuronidase für die Glucuronidsynthese als Inaktivierungs- und Entgiftungsreaktion nicht geklärt, eine wesentliche quantitative Rolle in der Genese der Neugeborenenhyperbilirubinämie soll ihr aber nicht zukommen (SCHRÖTER).

Im übrigen sei darauf hingewiesen, daß das Saccharo-1,4-Lacton ein endogener β -Glucuronidasehemmstoff ist. Es entsteht aus der u. a. durch die Spaltung von Glucuroniden gebildeten freien Glucuronsäure. Nach Umlagerung der freien Säure in das Lacton erfolgt mittels des Fermentes Glucuronsäurelacton-Dehydrogenase die Oxydation zu Saccharo-1,4-Lacton, wobei NAD zu NADH reduziert wird.

c) Extrahepatische Glucuronidsynthese

Die zunächst in der Leber von DUTTON u. STOREY gefundene Glucuronyltransferase kommt bei fast allen Säugetieren außer bei der Katze und bei Gunn-Ratten (DUTTON) auch extrahepatisch vor. So findet sie sich in der Niere, in der Schleimhaut von Magen und Dünndarm und in der Haut (DUTTON u. STEVENSON; STEVENSON u. DUTTON; DUTTON). In diesen Geweben wurde auch UDP-Glucuronsäure nachgewiesen.

Es ist noch nicht geklärt, welche Bedeutung die extrahepatische Glucuronidbildung hat und wie groß ihr Anteil an der Glucuronidsynthese insgesamt ist (SCHRÖTER). Es gibt jedoch Hinweise dafür, daß die Glucuronidbildung in der Darm-schleimhaut mit dem Transport und der Resorption verschiedener Substanzen im Zusammenhang steht, was für Thyroxin und Testosteron (ARIAS et al.) sowie für Steroide (HOFFMANN u. BREUER) nachgewiesen wurde.

Nachdem STEVENSON und DUTTON in der Magen- und Dünndarmschleimhaut während später Stadien der fetalen Entwicklung eine höhere oder gleich hohe Glucuronyltransferaseakti-

vität fanden wie in den entsprechenden Organen Erwachsener, nahmen sie an, daß beim Fetus die Summe aus intestinaler und dermalen Glucuronidsynthese die der Leber übertrifft. Eine definitive Aussage über Bedeutung und Ausmaß der extrahepatischen Glucuronidsyntheseleistung bei Erwachsenen und Neugeborenen ist auf Grund der bisher vorliegenden Ergebnisse noch nicht möglich (SCHRÖTER).

d) Der Stoffwechsel der freien Glucuronsäure

Für die Glucuronidsynthese bedarf es grundsätzlich der aus UDP-Glucose entstehenden UDP-Glucuronsäure. Die beim Menschen und den meisten Tieren im Urin zur Ausscheidung gelangende Glucuronsäure liegt als Glucuronid vor. Sie wird dort quantitativ ins Gewicht fallend in freier Form nicht gefunden. Gesichert ist ferner, daß Glucuronsäure in konjugierter Form in Abhängigkeit von Spezies und Aglycon in großen Mengen auch in der Galle ausgeschieden werden kann (HEYDE).

Die freie Glucuronsäure entsteht im Säugetierorganismus aus:

1. UDP-Glucuronsäure durch Katalyse einer Pyrophosphatase über Glucuronsäure-1-Phosphat, von dem das Phosphat hydrolytisch abgespalten wird,
2. aus Glucuroniden, die durch das Enzym β -Glucuronidase hydrolytisch gespalten werden können,
3. aus myo-Inosit, der im Säugetierorganismus in freier Form in besonders hoher Konzentration in der Linse (VAN HEYNINGEN), im Sperma (HARTREE), in Thyreoidea und Hypophyse (DAWSON et al.) vorkommt. Die myo-Inosit-Oxygenase spaltet Inosit zwischen den C-Atomen 1 und 6 unter Sauerstoffaufnahme und Abgabe von 2 H-Atomen, wodurch irreversibel Glucuronsäure entsteht (CHARALAMPOUS).

Die D-Glucuronsäure wird, wenn sie oral als Lacton zugeführt wird, fast völlig abgebaut (HOLLMANN u. WILLE).

DOUGLAS u.KING fanden bis zu 64 % parenteral applizierten Glucuronsäurelactons im CO_2 der Ausatemungsluft wieder.

Hingegen wird Glucuronat nur zu 10 % als CO_2 abgeatmet, der größte Teil der zugeführten Glucuronatmenge erscheint ungenutzt im Harn, nur 0,2 % werden im Leberglycogen wiedergefunden (SCHREIER u.PORATH). Diese und ähnliche Ergebnisse von BUTLER u.PACKHAM geben die Erklärung für das Versagen der Glucuronsäureapplikation als Arzneimittel bei z.B. rheumatischen Erkrankungen (PETERMANN; ARTZ u.OSSMANN).

Wenn freie Glucuronsäure auch an der Glucuronidierungsreaktion nicht unmittelbar teilnimmt, kann sie doch im Stoffwechsel anderweitig Verwendung finden.

Und zwar bietet der "Glucuronsäure-Xylulose-Cyclus" die Möglichkeit, freie D-Glucuronsäure nach Überführung in das D-Xylulose-5-Phosphat und dessen anschließender Umsetzung über die nicht-oxydativen Reaktionen des "Pentose-Phosphat-Cyclus" in den glycolytischen Abbau zurückzuführen. Die beiden Stoffwechselcyclen sollen deshalb im folgenden in ihren wesentlichen Reaktionsabläufen kurz dargestellt werden.

aa) Der Pentosephosphat-Cyclus

Im Stoffwechsel des Säugetiers kommen dem Pentosephosphat-Cyclus zwei wichtige Funktionen zu. Dies ist einmal die Bereitstellung von Ribose, einer Pentose, die für den Aufbau von Nucleotiden und Nucleinsäuren benötigt wird. Dann ist es die Bildung von NADPH. Der Pentosephosphatweg ist der bedeutendste direkte NADPH - Lieferant für alle synthetischen reduktiven Prozesse im Stoffwechsel.

Für die Einleitung des Pentosephosphatcyclus ist NADP^+ erforderlich. Da jedoch in allen untersuchten Geweben die reduzierte über die oxydierte Form dieses Wasserstoffüberträgers überwiegt (GLOCK u.MCLEAN), stimulieren alle Prozesse, die die Konzentration von NADP^+ erhöhen, den Umsatz über den Pentosephosphatcyclus. Einige der wichtigsten NADPH-verbrau-

chenden Reaktionen des Stoffwechsels sollen deshalb in Form einer Zusammenstellung hervorgehoben werden:

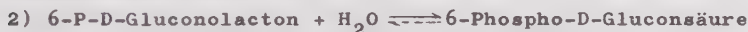
Synthese von gesättigten(BRESSLER) und olefinischen Fettsäuren(BLOOMFIELD),
 Teilreaktionen in der Synthese von Prolin(YURA), von Lysin(SAGISAKA), Valin und Isoleucin(ARMSTRONG),
 Teilreaktionen der Cholesterinsynthese(HALKERSTON) sowie der Progesteronsynthese aus Cholesterin,
 Gallensäuresynthese aus Cholesterin(WHITEHOUSE),
 Hydroxylierung aromatischer Verbindungen(BRODIE et al.)
 Reduktion von Retinin(FUTTERMAN) u.a.m.

Die Reaktionsfolge des Pentosephosphatcyclus läßt sich wie folgt darstellen:



Die Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase katalysiert diese Dehydrierung reversibel(CORI, O.; HORECKER).

Die spontane Hydrolyse des primär aus G-6-P entstandenen Lactons zur freien Säure wird beschleunigt durch die 6-Phosphogluconolactonase.



Die 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase besorgt die Umwandlung in D-Ribulose-5-Phosphat unter Decarboxylierung und erneuter Reduktion von NADP^+ zu NADPH.

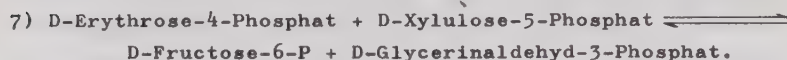
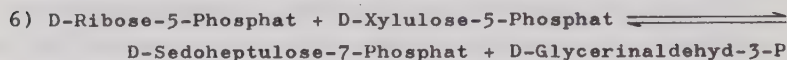


In der Phosphoketopento-3-Epimerasereaktion kann dieses D-Ribulose-5-Phosphat zu D-Xylulose-5-Phosphat epimerisiert werden, für das Gleichgewicht Xu-5-P/Ru-5-P werden Werte zwischen 1,2 und 1,5 angegeben(ASHWELL et al.).

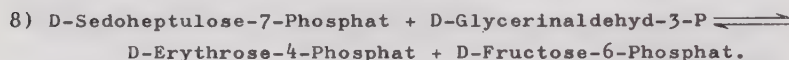
Unter der Einwirkung der Phosphoriboseisomerase entsteht aus D-Ribulose-5-Phosphat auch das Isomer D-Ribose-5-Phosphat.



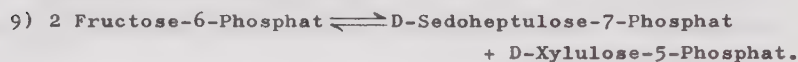
Die beiden aus Ribulose-5-Phosphat durch die 3-Epimerase bzw. die Isomerase entstehenden Pentosephosphate Ribose-5-Phosphat und D-Xylulose-5-Phosphat sind Substrate für die Transketolase, deren Funktionen in den beiden folgenden Reaktionsgleichungen formuliert sind (HORECKER et al.):



Eine Transaldolase katalysiert die folgende Reaktion:



Für die nichtoxydative Bildung von Pentosephosphat aus Fructosephosphat ist bedeutsam, daß in Anwesenheit von Transketolase und Transaldolase auch folgende Reaktion möglich wird (HORECKER; BONSIGNORE):



Die im Pentosephosphatcyclus entstehende Hexose Fructose-6-Phosphat kann nun in die Glycolyse einmünden wie auch das Glycerinaldehyd-3-Phosphat.

Andererseits kann aber auch durch Katalyse der Phosphoglucoisomerase wieder Glucose-6-Phosphat gebildet werden.

Für die gegenseitige Beeinflussung von Pentosephosphatcyclus und Glycolyse ist von Wichtigkeit, daß zwei Substrate der Transketolase und Transaldolase, nämlich das Erythrose-4-Phosphat und das Sedoheptulose-7-Phosphat, die Glycolyse hemmen. Dies geschieht über eine Hemmung der eben genannten Phosphoglucoisomerase (VENKATARAMAN).

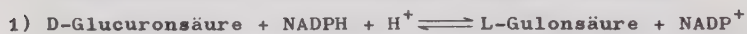
Die quantitativen Angaben über den Umsatz von Glucose via PPh-Cyclus und Glycolyse schwanken außerordentlich. Ein Grund dafür könnte auf der Unterschiedlichkeit der Auswertungsverfahren beruhen. Zum andern ist der auf einem bestimmten Wege umgesetzte Glucoseanteil keine konstante Größe,

zur Resynthese von Hexosephosphaten der Reaktionsablauf identisch ist.

bb) Der Glucuronsäure-Xylulose-Cyclus

Das Startsubstrat für dieses zyklische Stoffwechselgeschehen stellt die freie Glucuronsäure dar, deren Entstehen im Säugetierorganismus schon besprochen wurde.

Der Reaktionsablauf läßt sich wie folgt formulieren: Das Enzym NADP-L-Gulonatdehydrogenase katalysiert in reversibler Form die Hydrierung der Glucuronsäure:



Diese Reaktion ist in vivo durch Isolierung markierter L-Gulonsäure aus dem Harn nach Injektion von markiertem Glucuronsäurelacton bestätigt worden (BURNS).

Darauf folgt eine Dehydrierung durch die NAD-L-Gulonat-Dehydrogenase:



Das Enzym wurde aus Leber und Niere gereinigt (SMILEY u. ASHWELL). Es schließt sich eine oxydative Decarboxylierung an:



Das Gleichgewicht dieser Reaktion liegt mehr auf Seiten der L-Xylulose.

Die Reaktionsfolge ist bis hierher auch für den Menschen in vivo sichergestellt, da aus dem Harn von Patienten mit essentieller Pentosurie nach oraler Zufuhr von 1-C^{14} -Glucuronsäurelacton L-Xylulose mit vorwiegender Markierung am C-5-Atom isoliert werden konnte (TOUSTER et al.). Es wird angenommen, daß es sich bei dieser Erscheinung um eine Fermentblockade handelt. Wo normalerweise die NADP-Xylit-Dehydrogenase für die Bildung von Xylit aus L-Xylulose sorgt, scheint hier bei der essentiellen Pentosurie der Glucuronsäure-Xylulose-Cyclus unterbrochen zu sein (HIATT).



- 1 myo - Inosit-Oxygenase
- 2 NADP-L-Gulonat-Dehydrogenase
- 3 NAD-L-Gulonat-Dehydrogenase
- 4 β -Keto-L-Gulonat-Decarboxylase
- 5 NADP-Xylit(L-Xylulose)-Dehydrogenase
- 6 NAD-Xylit(D-Xylulose)-Dehydrogenase
- 7 D-Xylulokinase + ATP
- 8/9 Phosphoketopento-3-Epimerase/Phosphoriboseisomerase/
Transketolase/Transaldolase/Transketolase
- 10 Phosphoglucoisomerase
- 11 Phosphoglucomutase
- 12 Glycogenphosphorylase
- 13 UDP-Glucose-Pyrophosphorylase
- 14 Glycogensynthetase
- 15 UDP-Glucose-Dehydrogenase
- 16 UDP-Glucuronsäure-Pyrophosphatase.

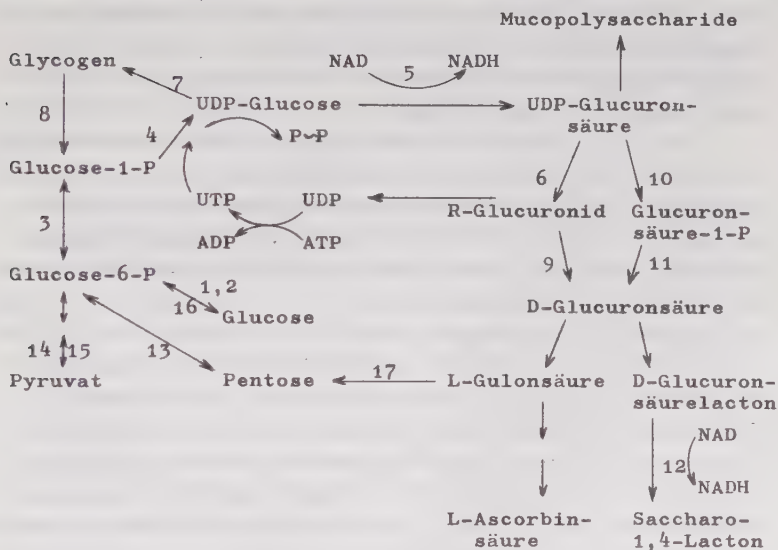
Die Bestätigung für den Reaktionsablauf im Glucuronsäure-Xylulose-Cyclus wurde durch in vivo-Versuche erreicht, in denen nach Zufuhr spezifisch markierten Inosits oder von Zwischengliedern des Cyclus die Isotopenverteilung in der Glucose des Leberglycogens und bei phloricininbehandelten Ratten in der Harnglucose bestimmt wurde (POSTERNAK et al.; EISENBERG et al.; MCCORMICK u. TOUSTER).

Der Glucoseumsatz über den Glucuronsäure-Xylulose-Cyclus wird beim Menschen auf ungefähr 3 % des Tagesumsatzes veranschlagt (STROMINGER). Als Stoffwechselweg zur Ribosynthese soll der Cyclus eine nur untergeordnete Rolle spielen (HIATT u. LAREAU). Überhaupt ist die eigentliche Funktion des Glucuronsäure-Cyclus noch weitgehend unbekannt, wenn er auch als Transhydrogenierungssystem eine große Bedeutung haben könnte (HOLLMANN).

Bemerkenswert ist die Tatsache, daß viele Säugetierspezies in der Lage sind, über den Glucuronsäure-Xylulose-

Cyclus in der Leber Ascorbinsäure zu bilden. Die Synthese der Ascorbinsäure, deren Bildung aus Glucuronsäurelacton in vivo schon länger bekannt ist (HOROWITZ u. KING), zweigt auf der Stufe der L-Gulonsäure von den Reaktionen des Glucuronsäure-Cyclus ab.

In dem nun folgenden Schema nach SCHRÖTER sind die Glucuronsäure- und Glucuronidsynthese einschließlich der damit in direktem Zusammenhang stehenden Stoffwechselwege dargestellt.



- | | |
|--|----------------------------------|
| 1 Hexokinase | 10 UDP-Glucuronsäure-P P-ase |
| 2 Glucokinase | 11 Glucuronsäure-1-P-Phosphatase |
| 3 Phosphoglucomutase | 12 Glucuronsäurelacton-DH |
| 4 UDP-Glucose-pyrophosphorylase | 13 PPh-Cyclus |
| 5 UDP-Glucose-DH | 14 Glycolyse |
| 6 Glucuronyltransferase | 15 Gluconeogenese |
| 7/8 Glycogensynthetase/Glycogenphosphorylase | 16 Glucose-6-P-Phosphatase |
| 9 β -Glucuronidase | 17 Glucuronsäurecyclus. |

Die Betrachtung dieses Schemas rückt die zentrale Bedeutung der Glucose und ihrer Speicherform, des Glycogens, für den geregelten Ablauf der aufgezeigten Stoffwechselprozesse ins Blickfeld.

Welche Stellung die Glucose dadurch auch in der Pädiatrie haben kann, zeigen die Untersuchungen über den Glycogenhaushalt und die Blutzuckerwerte in der Peri- und Postnatalperiode.

So findet sich in der Frühfetalzeit bei Säugetier und Mensch in allen untersuchten Organen wenig Glycogen. Der Anstieg erfolgt kontinuierlich bis zum Ende der Gravidität. Die Glycogenvorräte erreichen dann in Leber und Muskulatur ihren höchsten Stand (SHELLEY).

Nach der Geburt fällt der Glycogengehalt besonders der Leber steil ab und bleibt für mehrere Tage sehr niedrig, auch bei frühzeitiger kohlenhydratreicher Ernährung. In dieser postpartalen Phase wird gerade beim menschlichen Säugling der größte Teil der benötigten Energien über den Fettumsatz bereitgestellt (K. SCHREIER).

Parallel zum Rückgang der Glycogenreserven stellt sich post partum auch ein Blutzuckerabfall ein. Es werden Hypoglycämiewerte von weit unter 40 mg% gefunden, BACHMANN u. a. fanden sogar Werte von 11 - 13 mg%, wobei nach NELIGAN ab 20 mg% mit neurologischen Symptomen zu rechnen ist.

Bei Frühgeborenen ist der Blutzuckerabfall generell noch ausgeprägter, nach 8 - 12 Stunden werden hypoglycämische Werte von 20 - 25 mg% erreicht, ohne daß es zu einer klinischen Symptomatik kommen muß. Nach WYBREGHT u. Mitarb. werden in 8 % der Fälle Hypoglycämien von unter 20 mg% erreicht, sehr unreife Frühgeborene zeigen dabei besonders niedrige Werte (C. A. SMITH; ROSSI). Hypoglycämien dieser Schweregrade bleiben nicht ohne Folgen für das Zentralnervensystem (ROMINGER).

In diesem Zusammenhang könnte auch die schon bei reifen Neugeborenen gefundene Glucosurie der ersten 3 - 4 Lebens-tage von Bedeutung sein, da sie bei Frühgeborenen verstärkt auftreten kann und dann Werte bis zu 20 mg% erreicht (BICKEL).

Diese auch als "physiologische Meliturie" bezeichnete Erscheinung ist auf eine passagere Rückresorptions-Insuffizienz der proximalen Nierentubuli zurückzuführen.

Daß Hypoglycämien bei einem Glycogen-Mangelzustand in der Leber des Neu- und Frühgeborenen zu einer Zeitspanne des erhöhten Energiebedarfs und das Bestreben des Organismus, aus UDP-Glucose Glycogen aufzubauen, sich negativ auf die UDP-Glucuronsäuresynthese und auf die Bilirubinglucuronidbildung auswirken können, scheint im Bereich des Möglichen zu liegen.

So ist die 1961 von BROWN u. ZUELZER angenommene Arbeitshypothese, daß ein Glucosemangel für das Zustandekommen der transitorischen Neugeborenenhyperbilirubinämie nicht ohne Einfluß sein könnte, weder eindeutig widerlegt noch sicher bestätigt worden.

Zumindest konnte im erwachsenen Organismus von Tier und Mensch die Glucuronidbildung durch Verabreichung großer Glucosemengen gesteigert werden (MÜTING; HEESSEN u. HEYDE). Beim Neugeborenen ist die günstige Wirkung einer Glucosezufuhr auf die Hyperbilirubinämie noch nicht sicher erwiesen (SCHELLONG u. ROCHOLL; SCHELLONG), obwohl andere Autoren bei Neugeborenen diabetischer Mütter (HUBBELL et al.) und bei Frühgeborenen die Bilirubinkonzentrationen nach Verabreichung von Glucose verringert sahen (LAURANCE u. SMITH; THEILE u. REICH).

Nach den Ergebnissen von WENNBERG muß allerdings auch erwogen werden, daß es allein die Veränderung der Flüssigkeitsbilanz mit der Glucosezufuhr war, die eine vermehrte Bilirubinausscheidung begünstigt haben könnte.

Zahlreiche weitere Ergebnisse therapeutischer Bemühungen um die transitorische Hyperbilirubinämie der Neugeborenen haben noch keine sicheren Erfolge gezeitigt. Sie sollen hier der Vollständigkeit halber erwähnt werden.

Ausgehend von den verschiedenen Hypothesen zur Entstehung der Neugeborenenhyperbilirubinämie sind die unterschiedlichsten Versuche durchgeführt worden. Im Vordergrund steht dabei die hepatogene Komponente, die sich in zwei Teilaspekte gliedern läßt: Die Insuffizienz der Glucuronidsynthe-

se und eine Insuffizienz der Bilirubinsekretion. Hinzu kommt ein verstärkter Anfall von Bilirubin, das größtenteils aus dem Hämoglobin der wegen ihrer kürzeren Lebensdauer vermehrt zerfallenden Erythrozyten stammt (KÜNZER). Hier kann die Therapie insofern theoretisch ansetzen, als eine frühzeitige Abnabelung zu einer Verminderung der sonst dem Abbau anheimfallenden zusätzlichen Erythrozytenmenge führt, die immerhin bis zu 20 % der bereits vorhandenen ausmachen kann (USHER et al.). Ohne Einschränkung kann die Frühabnabelung aber nicht empfohlen werden, da die Gefahren größer sind als der ungewisse Nutzen (REDMONT et al.; CHU et al.; COMROE).

Diskutiert wird auch eine Rückresorption von Bilirubin aus dem Darm als ein bei Neugeborenenhyperbilirubinämie unterhaltender und verstärkender Faktor. Diese Rückresorption ist beim Erwachsenen nachgewiesen (GILBERTSEN et al.; LESTER u. SCHMID). Versuche, in denen bei frühzeitiger Behandlung mit aktivierter Kohle die Bilirubinkonzentrationen bei Neugeborenen auf etwas geringere Werte anstiegen als bei unbehandelten Kindern (ULSTROM u. EISENKLAM; LÜCKING u. KÜNZER), zeigten, daß auch bei Neugeborenen ein Teil des unkonjugierten Bilirubins aus dem Darm resorbiert wird (BRODERSEN u. HERMANN).

Es fehlt auch nicht an Versuchen, die auf eine Fermentinduktion in der Leber hinzielen. Durch eine Aktivierung des Glucuronyltransferasesystems soll eine Steigerung der Bilirubinglucuronidsynthese erreicht werden. Während TROLLE eine Senkung der mittleren Bilirubinkonzentration bei reifen und unreifen Neugeborenen durch eine längere Phenobarbitalbehandlung erreichte, was durch ROBINSON bestätigt wurde, konnten CUNNINGHAM u. MACE diese Wirkung nicht feststellen.

Insgesamt gesehen sind diese Versuche zwar interessant, jedoch ist ihnen der grundlegende Erfolg bisher versagt geblieben.

In dem nun folgenden experimentellen Teil der Arbeit soll geprüft werden, ob die direkt in den Glucose- und Glycogenstoffwechsel eingreifenden Hormone Insulin und Glucagon das Niveau der freien und gebundenen Glucuronsäure im Serum in irgendeiner Form beeinflussen können.

IV. Anordnung und Durchführungsbedingungen der Tierversuche.

a) Versuchstiere

Als Versuchstiere fanden jugendliche Wistar-Albino-Ratten Verwendung, die ein Normgewicht von etwa 100 g aufwiesen und vom Aspekt her gesund waren.

Die Tiere standen zu Versuchsbeginn unter einer mindestens achtstündigen Nahrungs- und Flüssigkeitskarenz.

b) Hormondosierung

Zu Versuchsbeginn wurde jeweils 9 Tieren

0,1 E Altinsulin bzw.

2 γ Glucagon,

die in je 1 ml aqua dest. gelöst waren, intraperitoneal injiziert. Diese Dosis entspricht nach Umrechnung

1 E Altinsulin/Kg Körpergewicht bzw.

20 γ Glucagon/Kg Körpergewicht,

und damit einer applizierten Hormondosis, die sich schon oberhalb einer für den Menschen als physiologisch zu bezeichnenden Menge einstufen läßt, die jedoch auch für Ratten noch sicher im submaximalen Bereich liegt.

c) Versuchstechnik

10, 30 und 60 Minuten nach der Hormoninjektion wurden jeweils 3 Ratten getötet. Es wurde vorsichtig Jugularisvenenblut entnommen, von dem ein kleiner Teil zur Blutzuckerbestimmung abgezweigt wurde. Der größere Teil wurde zentrifugiert. Aus dem so gewonnenen Serum - bis zur Auswertung in tiefgefrorenem Zustand bei -25°C aufbewahrt - wurden die freie und die gebundene Glucuronsäure photometrisch bestimmt.

Synchron zu den Hormonversuchstieren wurde weiteren 9 Ratten 1 ml 0,9 % -ige NaCl - Lösung intraperitoneal injiziert, um eine etwaige Strßwirkung der Injektions-Prozedur mitzuerfassen.

Daneben wurden aber auch 9 weitere vollkommen unbehandelte Ratten unter sonst gleichen Bedingungen zu Kontrollzwecken in Dreiergruppen mitgeführt.

Um die nicht ausschließbare technisch bedingte Fehlerbreite zu verringern, wurden bei allen Untersuchungen Doppelanalysen angesetzt.

d) Analysemethoden

Die Bestimmung der freien und gebundenen Glucuronsäure wurde vorgenommen nach modifizierten methodischen Vorschlägen von TOLLENS.

Bei den Blutzuckerbestimmungen ist zu berücksichtigen, daß aufgrund der hier angewandten Reduktionsmethode nach HAGEDORN-JENSEN die ermittelten Werte höher ausfallen als dies bei Benutzung z.B. enzymatischer Methoden der Fall gewesen wäre.

1) Bestimmung der freien und der gebundenen Glucuronsäure:

0,2 ml Serum werden mit 1,2 ml aqua dest. unter gutem Mischen verdünnt.

Man gibt 0,2 ml 10 % -iges Natriumwolframat und 0,2 ml $\frac{2}{3}$ n H_2SO_4 hinzu.

Nach einigen Minuten wird zentrifugiert.

Im Überstand befindet sich jetzt die freie, d.h. die nicht-eiweißgebundene Glucuronsäure.

Das Sediment wird mit 0,2-0,4 ml $\frac{2}{3}$ n H_2SO_4 gewaschen und erneut zentrifugiert, dann bei $110^\circ C$ getrocknet:

Nach Zugabe von 2 ml n-HCl wird 4 Stunden im geschlossenen (= zugeschmolzenen) Glasröhrchen erhitzt.

Mit dem Überstand wird die Farbreaktion mit Naphthoresorcin angestellt.

Die freie Glucuronsäure wird aus dem zuvor gewonnenen Überstand bestimmt.

Die Farbreaktion mit Naphthoresorcin verläuft wie folgt:

2 ml der zu untersuchenden Lösung werden mit 2 ml Naphthoresorcinlösung (25 mg / 25 ml aqua dest.) und

2 ml konzentrierter HCl im kochenden Wasserbad 30 Minuten erhitzt.

Das Reaktionsgemisch wird sodann in Eiswasser gekühlt. Nach 5 Minuten werden 2 ml 96 % -iger Aethanol zugegeben. Das Gemisch wird nun in einem kleinen Scheidetrichter zunächst mit 10 ml und dann mit 5 ml Aether ausgeschüttelt und die Aether-Extrakte werden anschließend vereinigt, auf 15 ml aufgefüllt und mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet.

Es folgt die Messung der Farbtintensität bei $580m\mu$.

Als Vergleichslösung dient eine Glucuronsäure-Eichlösung:

Aus einer Stammlösung, die 0,2 g Glucuronsäurelacton in 500 ml aqua dest. entsprechend $400\gamma/ml$ enthält, wird eine Verdünnungsreihe von

5 γ , 10 γ , 20 γ , 50 γ , 100 γ , (200 γ) enthaltenden Lösungen hergestellt, und zwar für jede Auswertungsserie neu, was bei diesem Versuchsprogramm viermal erforderlich war. Auch das Naphthoresorcinreagens ist gekühlt nur etwa 24 Stunden haltbar und mußte ebenfalls stets neu ange-setzt werden.

2) Blutzuckerbestimmung nach HAGEDORN-JENSEN:

0,1 ml Blut werden in 5 ml 0,45 % -ige $ZnSO_4$ -Lösung eingeblasen.

Nach Zugabe von 1 ml 0,1 n NaOH wird 5 Minuten im kochenden Wasserbad erhitzt.

Das Gemisch wird filtriert, das Filterpapier wird zweimal mit 3 ml heißem aqua dest. ausgespült.

Zu diesem Filtrat gibt man 2 ml 0,005 n $K_3Fe(CN)_6$ und kocht nochmals 15 Minuten.

Nach vollständiger Abkühlung setzt man 2 ml eines NaCl- $ZnSO_4$ - KJ - Gemisches (= 4 ml NaCl - $ZnSO_4$ + 1,0 ml 12,5 % -ige KJ - Lösung) sowie 2 ml 3 % -ige Essigsäure hinzu.

Unmittelbar vor der Titration mit Natriumthiosulfat werden 3 Tropfen einer Stärkelösung dazugegeben.

Zu Korrekturzwecken werden stets Leerproben mitgeführt und den gleichen Reaktionsbedingungen unterworfen.

V. Ergebnisse und Tabellen

A. Ergebnisse der Glucuronsäurebestimmungen

1) Serum - Glucuronsäure bei unbehandelten Ratten.

Die Versuchstiere wurden parallel zum Hormonversuch in Abständen von 10,30 und 60 Minuten nach Versuchsbeginn getötet. Die Zugehörigkeit zu einer bestimmten Versuchsserie ist entscheidend für die Auswertung an Hand der Eichkurven.

In den folgenden Tabellen sind in der ersten Kolumne die Extinctionswerte, in der zweiten die Mittelwerte eingetragen. In der dritten Spalte sind die an der Ordinate der jeweiligen Eichkurven abgelesenen Glucuronsäurewerte in γ /ml und in der vierten diese Werte nach ihrer Umrechnung in mg/100 ml eingetragen.

a.) Gebundene Glucuronsäure

Extinction	MW	γ /ml	mg/100 ml
10 min nach Versuchsbeginn:			
0,042 / 0,032	0,037	23	2,3
0,032 / 0,045	0,039	24	2,4
0,050 / 0,040	0,045	28	2,8
30 min nach Versuchsbeginn:			
0,035 / 0,045	0,040	26	2,6
0,030 / 0,044	0,037	25	2,5
0,034 / 0,034	0,034	23	2,3

60 min nach Versuchsbeginn:

0,030 / 0,028	0,029	15	1,5
0,020 / 0,020	0,020	11	1,1
0,020 / 0,015	0,018	10	1,0

b.) Freie Glucuronsäure bei unbehandelten Ratten

10 min nach Versuchsbeginn:

0,040 / 0,036	0,038	23	2,3
0,042 / 0,026	0,034	21	2,1
0,028 / 0,028	0,028	17	1,7

30 min nach Versuchsbeginn:

0,040 / 0,033	0,037	25	2,5
0,022 / 0,027	0,025	18	1,8
0,020 / 0,024	0,023	17	1,7

60 min nach Versuchsbeginn:

0,032 / 0,024	0,028	15	1,5
0,026 / 0,028	0,027	14	1,4
0,028 / 0,025	0,027	14	1,4

2.) Glucuronsäure bei mit 0,9% -iger NaCl - Lösung behandelten Versuchstieren.

a.) Gebundene Glucuronsäure p.i. (=post injectionem)

10 min p.i.

0,042 / 0,032	0,037	20	2,0
0,032 / 0,045	0,039	21	2,1

30 min p.i.

0,030 / 0,035	0,033	18	1,8
0,050 / 0,040	0,045	25	2,5

60 min p.i.

0,045 / 0,048	0,047	26	2,6
0,048 / 0,038	0,042	23	2,3
0,030 / 0,040	0,035	19	1,9

b.) Freie Glucuronsäure bei mit NaCl behandelten Ratten

10 min p.i.

0,024 / 0,022	0,023	13	1,3
0,022 / 0,026	0,024	13	1,3

30 min p.i.

0,024 / 0,038	0,031	16	1,6
0,020 / 0,020	0,020	11	1,1

60 min p.i.

0,045 / 0,043	0,044	24	2,4
0,030 / 0,013	0,022	12	1,2
0,010 / 0,050	0,030	16	1,6

3.) Glucuronsäure bei mit Insulin behandelten Ratten:

a.) Gebundene Glucuronsäure

10 min p.i.

0,030 / 0,040	0,035	22	2,2
0,040 / 0,040	0,040	25	2,5
0,036 / 0,042	0,039	25	2,5

30 min p.i.

0,036 / 0,044	0,040	27	2,7
0,035 / 0,043	0,039	27	2,7
0,040 / 0,044	0,042	28	2,8

60 min p.i.

0,078 / 0,030	0,054	28	2,8
0,068 / 0,026	0,047	23	2,3
0,028 / 0,028	0,028	15	1,5

b.) Freie Glucuronsäure nach Insulin-Behandlung

10 min p.i.

0,026 / 0,030	0,028	18	1,8
0,024 / 0,022	0,023	15	1,5
0,030 / 0,030	0,030	19	1,9

30 min p.i.

0,025 / 0,025	0,025	17	1,7
0,022 / 0,025	0,023	16	1,6
0,028 / 0,035	0,032	21	2,1

60 min p.i.

0,034 / 0,034	0,034	16	1,6
0,031 / 0,034	0,032	15	1,5
0,025 / 0,030	0,028	14	1,4

4.) Glucuronsäure bei mit Glucagon behandelten Ratten.

a.) Gebundene Glucuronsäure

10 min p.i.

0,040 / 0,050	0,045	24	2,4
0,045 / 0,038	0,041	22	2,2
0,042 / 0,038	0,040	21	2,1

30 min p.i.

0,044 / 0,030	0,037	20	2,0
0,050 / 0,050	0,050	27	2,7
0,045 / 0,038	0,041	22	2,2

60 min p.i.

0,024 / 0,034	0,029	15	1,5
---------------	-------	----	-----

b.) Freie Glucuronsäure

10 min p.i.

0,023 / 0,034	0,028	14	1,4
0,020 / 0,021	0,021	10	1,0
0,030 / 0,020	0,025	12	1,2

30 min p.i.

0,018 / 0,040	0,029	15	1,5
0,018 / 0,020	0,019	9	0,9
0,020 / 0,020	0,020	10	1,0

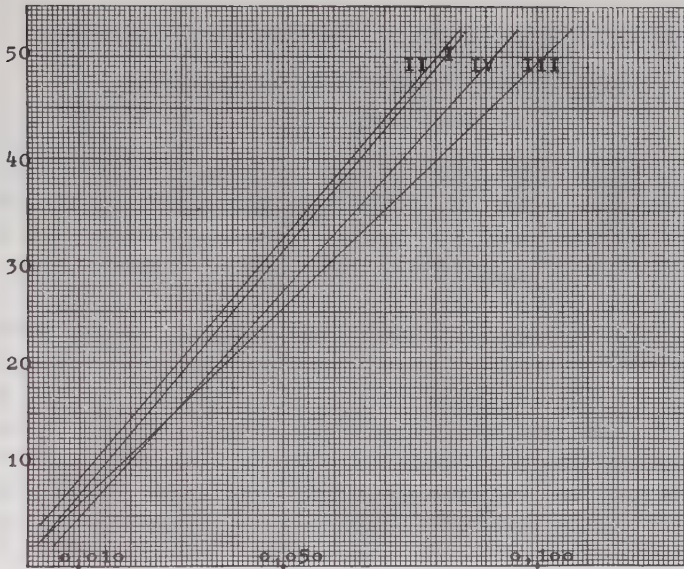
60 min p.i.

0,023 / 0,018	0,021	11	1,1
---------------	-------	----	-----

Die Auswertung erfolgte nach den vier herzustellenden Eichlösungen und der graphischen Darstellung ihrer Extinctionswerte.

Die ermittelten Wertetabellen der Eichkurven lauten:

Glucuronsäure in γ / ml	Extinctionswerte der Eichlösungen	
	I	II
5	0,003 / 0,004	0,003 / 0,003
10	0,013 / 0,013	0,006 / 0,008
20	0,038 / 0,036	0,028 / 0,030
50	0,082 / 0,082	0,075 / 0,084
100	0,150 / 0,175	0,160 / 0,185
(200)	(0,360 / 0,350)	(0,320 / 0,310)
	III	IV
5	0,012 / 0,012	0,013 / 0,013
10	0,018 / 0,018	0,025 / 0,023
20	0,038 / 0,033	0,038 / 0,034
50	0,096 / 0,122	0,084 / 0,126
100	0,200 / 0,205	0,170 / 0,165



Die Gültigkeitsbereiche der Eichkurven sind folgendermaßen aufgeteilt:

Nach Kurve I wurden die Extinctionswerte der Insulinserie 10 min p.i. sowie die der unbehandelten Versuchstiere derselben Zeitzuordnung ausgewertet.

Nach Eichkurve II wurden die Extinctionswerte der Insulin-Serie 30 min p.i. sowie die der unbehandelten Versuchstiere derselben Zeitzuordnung ausgewertet.

Die Kurve III ist zuständig für die Insulin-Serie 60 min p.i. und für die letzte Gruppe der unbehandelten Ratten.

Die Kurve IV ist kompetent für alle Glucagon-Serien und für die Versuchsserie der mit NaCl-Injektionen behandelten Ratten.

B. Ergebnisse der Blutzuckerbestimmungen

Um einen sich möglicherweise ergebenden Zusammenhang zwischen den Werten für die Glucuronsäure und dem gleichzeitig mitbestimmten Blutzucker mitzuerfassen, schließt sich eine Tabelle der gefundenen Blutzuckerwerte an. Wie schon weiter oben betont, liegen die nach der Methode HAGEDORN-JENSEN ermittelten Werte um 15 - 30 % höher als die durch enzymatische Verfahren gewonnenen.

Die Tabelle enthält in der ersten Spalte die bei der Titration verbrauchte Menge $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, in der zweiten Rubrik sind die Mittelwerte eingetragen. In der dritten finden sich die an Hand der Umrechnungstabelle gefundenen Blutzuckerwerte, von denen noch die "Zucker"-Werte der Leerproben zu subtrahieren sind.

1.) Unbehandelte Ratten:

10 Minuten nach Versuchsbeginn

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	MW	Wert in mg%	Blutzucker (abzgl. Leerwert v. 25mg%)
1,50 / 1,47	1,49	90	65
1,47 / 1,48	1,48	92	67
1,54 / 1,52	1,53	83	58

30 min nach Versuchsbeginn

1,65 / 1,65	1,65	61	61
1,70 / 1,68	1,69	54	54
1,66 / 1,64	1,65	61	61

60 min nach Versuchsbeginn

1,65 / 1,43	1,49	83	83
1,63 / 1,43	1,53	85	85
1,66 / 1,55	1,61	68	68

2.) Insulin - behandelte Versuchstiere:

10 min p.i.

1,49 / 1,42	1,46	95	70
1,66 / 1,54	1,60	70	45
1,64 / 1,54	1,59	72	47

30 min p.i.

1,72 / 1,71	1,72	49	49
1,66 / 1,69	1,68	56	56
1,73 / 1,70	1,72	48	48

60 min p.i.

1,59 / 1,46	1,53	83	83
1,62 / 1,60	1,61	68	68
1,64 / 1,62	1,63	65	65

3.) Glucagon - behandelte Versuchstiere

10 min p.i.

1,42 / 1,52	1,47	93	68
1,68 / 1,64	1,66	59	34
1,64 / 1,60	1,62	66	41

30 min p.i.

1,50 / 1,50	1,50	88	88
1,50 / 1,50	1,50	88	88
1,46 / 1,46	1,46	95	95

60 min p.i.

1,55 / 1,30	1,43	109	109
1,38 / 1,15	1,27	110	110
1,42 / 1,16	1,29	102	102

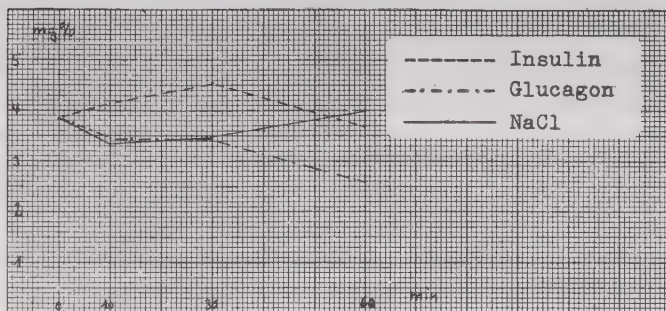
VI. Interpretation und Diskussion.

Vorangestellt sei eine zusammenfassende Übersicht über die in den Hormonversuchen an der Ratte gefundenen mittleren Glucuronsäurewerte im Serum:

Glucuronsäure:			
	gesamt mg%	gebunden mg%	frei mg%
1) Unbehandelte			
Ratten:	3,88	2,06	1,82
2) Nach NaCl-Injektion:			
10 min p.i.	3,35	2,05	1,30
30 min p.i.	3,50	2,15	1,35
60 min p.i.	4,00	2,27	1,73
3) Nach Insulin-Injektion:			
10 min p.i.	4,13	2,40	1,73
30 min p.i.	4,53	2,73	1,80
60 min p.i.	3,70	2,20	1,50
4) Nach Glucagon-Injektion:			
10 min p.i.	3,43	2,23	1,20
30 min p.i.	3,43	2,30	1,13
60 min p.i.	2,60	1,50	1,10

Die graphische Darstellung der gefundenen Ergebnisse soll eine zusätzliche Veranschaulichung bringen:

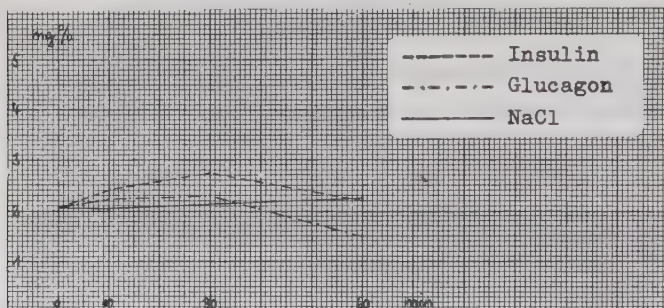
- a) Wirkung auf den Gehalt des Serums an Glucuronsäure, zusammengesetzt aus den Fraktionen der freien und der gebundenen Glucuronsäure:



- b) Wirkung auf die freie Glucuronsäure:



c) Wirkung auf die gebundene Glucuronsäure:



Bei unbehandelten Versuchstieren wurde ein mittlerer Glucuronsäuregehalt des Serums von 3,88 mg % gefunden, der sich aus den Fraktionen der eiweißgebundenen und der freien Glucuronsäure zusammensetzt. Die gebundene Glucuronsäure betrug im Mittel 2,06 mg %, die freie 1,82 mg %.

Die Werte für die gesamte Glucuronsäure entsprechen weitgehend den von verschiedenen Autoren gefundenen.

Und zwar fanden HOLLMANN u. WILLE einen mittleren Serumgehalt von 2,21 mg %, DEICHMANN u. DIERKER fanden 2,50 mg %. Nach HOLLMANN u. WILLE beträgt der mittlere Gehalt hämolysierten Oxalatblutes 4,49 mg % Glucuronsäure, RATISH u. BULLOWA erhielten höhere Werte, im Mittel 7,5 mg %, FISHMAN u. Mitarb. fanden 6,0 mg %.

Der hier genannte Mittelwert liegt mit 3,88 mg % zwischen den beiden von HOLLMANN u. WILLE angegebenen. Dafür könnte die in diesen Tierversuchen in allen Serien aufgetretene leichte Hämolyse verantwortlich zeichnen.

Andererseits fanden PORATH u. SCHREIER bei menschlichen Früh- und Neugeborenen wesentlich höhere Serum-Glucuronsäuredaten zwischen 3 und 14 mg %.

Bei den mit Insulin behandelten Ratten findet sich ein geringfügiger Anstieg der Gesamtglucuronsäure, an dem

sich die Fraktionen der freien und der gebundenen Glucuronsäure beteiligen, die gebundene deutlicher als die freie. Der Anstieg wird am ehesten 30 Minuten post injectionem sichtbar. Auch nach der Injektion von 0,9 %-iger NaCl-Lösung tritt eine Reaktion auf, und zwar stellt sich nach initialem Abfall der Glucuronsäurekonzentration eine ansteigende Tendenz ein. Ein durch die Injektionsmenge verursachter Verdünnungseffekt könnte dafür in Betracht zu ziehen sein.

Ebenso sind nach der Glucagonapplikation zwar Abweichungen von den Ausgangswerten festzustellen, insgesamt sind diese jedoch zu gering, als daß auf einen Hormoneffekt geschlossen werden könnte. Diese Aussage trifft möglicherweise auch auf den Glucuronsäureanstieg nach Insulininjektion zu, ein Versuch in vergrößertem Maßstab könnte hier vielleicht zu einer Klärung beitragen.

Die Einflußnahme der Insulin- und Glucagoninjektionen auf die Blutzuckerverhältnisse wurde an den zu erwartenden Veränderungen der Werte deutlich.

Die bei der Versuchsplanung ursprünglich beabsichtigte zusätzliche Glycogenbestimmung aus Leber und Muskulatur der Versuchstiere mußte aus technischen Gründen unterbleiben. Eine Gegenüberstellung der gefundenen Glucuronsäurewerte einerseits und der Blutzucker- und Glycogenwerte andererseits hätte bei diesen Versuchen an hungernden Ratten unter Umständen aufschlußreich sein können.

VII. Zusammenfassung

Einer einleitenden Erläuterung der wichtigsten Entgiftungs- und Inaktivierungsmechanismen im Säugetierorganismus einschließlich einer Wertung des Glucuronidierungssystems folgt eine ausführliche Darlegung der Wirkungsphysiologie der benutzten Pankreashormone Insulin und Glucagon.

Ausgehend von der Glucuronsäuresynthese *in vitro* und *in vivo* wird eingehend zum Verbleib der Glucuronsäure im Stoffwechselgeschehen Stellung genommen. Daraus ergibt sich eine Darstellung der Glucuronidsynthese und ihrer Regulation *in vivo* sowie eine Erörterung der verschiedenen Hypothesen zur Genese von Glucuronidierungsstörungen, seien es nun konkurrierende Stoffwechselprozesse oder Enzym-Insuffizienzen.

Es schließt sich eine Zusammenstellung der unterschiedlichsten therapeutischen Bemühungen um die "transitorische Neugeborenen-Hyperbilirubinämie" an, die von den jeweiligen Entstehungshypothesen ausgehen.

Im experimentellen Teil der Arbeit werden zu Beginn die Versuchsplanung, die Hormondosierung und die chemisch-analytischen Verfahren erläutert, die bei den Untersuchungen Anwendung fanden.

Es folgen die Versuchsergebnisse in Tabellenform und in graphischen Darstellungen, die interpretiert und diskutiert werden.

Danach könnten die beiden Hormone einen gewissen Einfluß auf den Glucuronsäuregehalt des Serums bei hungrigen Ratten genommen haben. Und zwar zeigte sich nach intraperitonealer Injektion von Insulin ein geringfügiger Anstieg der Glucuronsäure, während sich nach der Injektion von Glucagon ein leichtes Absinken des Glucuronsäurespiegels einstellte. Dabei muß allerdings einschränkend bemerkt werden,

daß auch nach der Injektion von 0,9 % -iger NaCl-Lösung Schwankungen im Glucuronsäuregehalt des Serums festzustellen waren. Diese könnten einerseits auf eine gewisse "Streß"-Wirkung zurückzuführen sein, andererseits muß aber auch ein Verdünnungseffekt in die Überlegungen mit einbezogen werden. Dieser Verdünnungseffekt könnte dann allerdings auch die Versuchsergebnisse nach den Hormoninjektionen überlagern. Letztlich kann also insgesamt nicht mit Sicherheit auf Hormoneffekte geschlossen werden.

VIII. Literaturverzeichnis.

- ABEL, J. J.: Cristaline insulin. Proc. nat. Acad. Sci. 12, 132
(Wash. 1926)
- ABRAHAM, S. u. L. J. CHAIKOFF: J. biol. Chem. 134, 2246 (1957)
- AGRANOFF, B. W. u. R. O. BRADY: J. biol. Chem. 219, 221 (1956)
- ALBEGGIANI, A. u. S. MOGAVERO: Pediatria, Univ. Palermo, Napoli
78, 170-191 (1970)
- ALI, H. T. E. S. et al.: J. Pharmacol. Exper. Therap. 145, 142 (1964)
- ANKE, W. K. et al.: Amer. J. Dis. Child. 98, 559 (1959)
- ARIAS, I. M. et al.: Nature 197, 1109 (London 1963 a)
- ARMSTRONG, F. B. u. R. P. WAGNER: J. biol. Chem. 236, 2027 (1961)
- ARTZ, N. E. u. E. M. OSSMANN: Acad. Press inc., (N. Y. 1950)
- ASHWELL, G. u. J. HICKMAN: J. biol. Chem. 226, 65 (1957)
- BACHMANN, K. D. u. Mitarb.: M'schr. Kinderhk. III (1965)
- BARTON, M. E. et al.: Lancet 1962 II, 847
- BERTELSEN, Sv. u. K. MARCKER: Acta pharmacol. 18, 1 (Kbh. 1961)
- BICKEL, H.: In "Die physiol. Entw. d. Kindes" Springer 1959
- BILLING, B. H. et al.: Brit. med. J. 1954 II, 1263
- BLOOMFIELD, D. K. u. K. BLOCH: J. biol. Chem. 235, 337 (1960)
- BONSGNORE, A. et al.: J. biol. Chem. 237, 3597 (1962)
- BOS, S. E. u. R. R. C. SCHARFF: Helv. paed. Acta 14, 400 (1959)
- BRESSLER, R. S. u. J. WAKIL: J. biol. Chem. 236, 1643 (1961)
- BRIDGES, J. W. u. R. T. WILLIAMS: Biochem. J. 83, 27p (1962)

- BRODERSEN, R. et al.: Scand. J. clin. Lab. Invest. 20, 41 (1967)
- BRODERSEN, R. u. L. S. HERMANN: Lancet 1963 I, 1242
- BROMER, W. W. et al.: Amer. chem. Soc. 78 3, 858 (1956)
- BROWN, A. K.: Advance paediat. 12, 121 (1962)
- BROWN, A. K. u. H. H. BURNET: J. clin. Invest. 37, 332 (1958)
- BÜRGER, M. Klin. W' schr. 35 1 (1951)
- BÜRGI, H. et al.: Lancet 1963 II, 134
- BÜRGI, H. et al.: Biochim. biophys. Acta 121, 349 (Amst. 1966)
- BURNS, J. J.: J. Amer. Chem. Soc. 79, 1257 (1957)
- BUTCHER, R. W. et al.: J. biol. Chem. 241, 1652 (1966)
- BUTLER, G. G. u. M. A. PACKHAM: Arch. Biochim. biophys. 65, 551 (1955)
- CAHILL, G. F. Jr. et al.: Amer. J. Physiol. 192, 491 (1958)
- CALGER, P. et al.: Biochem. J. 85, 351 (1962)
- CAMPBELL, J. u. K. S. RASTOGI: Metabolism 16, 562 (1967)
- CARRUTHERS, B. M. u. A. I. WINEGRAD: Amer. J. Physiol. 202, 605 (1962)
- CHAMBERLAIN, M. J. u. L. STIMMLER: J. clin. Invest. 46, 911 (1967)
- CHANCE, B.: Acad. Press, N. Y. - London 1965
- CHARALAMPOUS, F. C.: J. biol. Chem. 234, 220 (1959)
- CERASI, E. u. R. LUFT: Lancet 1964 II, 769
- CHELDELIN, V. H. et al.: Fed. Proc. 17, 200 (1958)
- CHU, J. et al.: Pediatrics 35, 733 (1965)
- COHN, G. L. u. M. HUME: J. clin. Invest. 40, 1706 (1961)
- COLE, P. G. et al.: Biochem. J. 57, 514 (1954)
- COMBES, B. et al.: J. clin. Invest. 39, 1584 (1960)
- COMROE, H. Jr.: Circulation 33, 146 (1966)
- CONARD, V.: Acta méd. belg. éd. Bruxelles 18, 655 (1955)

- CORI, O. u. F. LIPMAN: J. biol. Chem. 194, 417 (1952)
- CRAIG, J. W. u. Mitarb.: Metabolism 10, 212 (1961)
- CROCKET, R. L. u. I. LESLIE: Biochem. J. 89, 516 (1963)
- CROFFORD, O. B. u. A. E. RENOLD: J. biol. Chem. 240, 3237 (1965)
- CROUGHS, R. J. M. et al.: Acta endocrin. 50, 213 (Kbh. 1965)
- CUNNINGHAM, M. D. u. J. R. MACE: Abst. 66, 16th Ann. Meet. Western Soc. Pediat. Res. 1968
- DANIEL, P. M. u. J. R. HENDERSON: Lancet 1967 I, 1256
- DAWSON, R. M. C. u. N. FREINKEL: Biochem. J. 78, 606 (1961)
- DE BODO, R. C. et al.: Diabetes 12, 16 (1963)
- DEICHMANN, W. u. M. DIERKER: J. biol. Chem. 163, 753 (1946)
- DIEKHOFF, J. u. J. SCHMIDT: 159, 113 (1959)
- DOUGLAS, J. F. u. C. G. KING: J. biol. Chem. 1998, 187 (Balt. 1952)
- DOUGLAS, J. F. u. C. G. KING: J. biol. Chem. 203, 889 (1953)
- DUPRÉ, R. et al.: Lancet 1966 II, 26
- DUTTON, G. J.: Biochem. J. 71, 141 (1959)
- DUTTON, G. J. u. I. H. STEVENSON: Biochim. biophys. Acta 31, 568 (1959)
- DUTTON, G. J. u. I. D. E. STOREY: Biochem. J. 57, 275 (1954)
- EISENBERG, F. Jr. et al.: J. biol. Chem. 224, 250 (1959)
- EXTON, J. H. u. C. R. PARK: Pharmacol. Rev. 18, 181 (1966)
- FAJANS, S. S. et al.: Rec. Progr. Horm. Res. 23, 617 (1967)
- FANKHAUSER, S.: Helv. med. Acta 30, 500 (1963)
- FISHMAN, W. H. u. Mitarb.: J. clin. Invest. 80, 685 (1951)

- FROESCH, E. R. et al.: J. clin. Invest. 43, 1816 (1963)
- FROESCH, E. R. et al.: Biochim. biophys. Acta (Amst.) 121, 60, 1966)
- FROESCH, E. R. et al.: Molek. Pharmacol. 3, 429 (1967)
- FUTTERMAN, S.: J. biol. Chem. 238, 1145 (1963)
- GILBERTSEN, A. S. et al.: Nature 196, 141 (1963)
- GLOCK, G. E. u. MCLEAN, P.: Biochim. biophys. Acta 19, 546 (1956)
- GRODSKY, G. M. u. J. V. CARBONE: J. biol. Chem. 226, 449 (1957)
- GRODSKY, G. M. u. R. FANSKA: Proc. Soc. exp. Biol. 97, 291 (N. Y. 1958)
- GRODSKY, G. M. u. L. L. BENNET: J. clin. Invest. 45, 1018 (1966)
- HALKERSTON, J. D. K. et al.: Arch. Biochem. biophys. 85, 287 (1959)
- HALKERSTON, J. D. K. et al.: J. biol. Chem. 236, 374 (1961)
- v. HARNACK, G. A. u. K. FISCHER: In: R. ELERT u. K. A. HÜTER (ed.):
 "Die Prophylaxe frühkindl. Hirnschäden" S. 101
 Thieme Stuttg. 1966
- HARTREE, E. F.: Biochem. J. 66, 131 (1957)
- HEESEN, W. u. W. HEYDE: Ärztl. W'schr. 14, 483 (1959)
- HEYDE, W.: In: "D-Glucose u. verw. Verb. in Med. u. Biologie" S. 639
 Enkeverl. Stutt. 1966
- HEYNS, K. u. H. PAULSEN: Angew. Chemie 69, 600 (1957)
- HIATT, H. W. u. J. LAREAU: J. biol. Chem. 233, 1023 (1958)
- HICKMAN, J. u. G. ASHWELL: J. biol. Chem. 232, 737 (1958)
- HIRATA, Y. et al.: Z. ges. exp. Med. 145, 111 (1968)
- HOFFMANN, W. u. H. BREUER: Z. klin. Chemie 6, 85 (1968)
- HOHORST, H. J. et al.: Biochem. biophys. Res. Commun. 4, 163 (1961)
- HOLLMANN, S.: "Nichtglycolytische Stoffwechselwege d. Glucose"
 Thieme, Stuttg. 1961

HOLLMANN, S.: Extraglycolytische Umsetzungen. In: "D-Glucose
u. verw. Verb. in Medizin u. Biologie"
Ferd. Enke-Verl. Stuttg. 1966

HOLLMANN, S. u. O. TOUSTER: J. biol. Chem. 225, 87 (1957)

HOLLMANN, S. u. E. WILLE: "Schicksal der Glucuronsäure im tier.
Organismus" I, Bd. 290 (1952)

HORNBROOK, K. R. u. T. M. BRODIE: Biochem. Pharmacol. 12, 1407 (1963)

HORECKER, B. L.: Biochim. biophys. Acta 12, 98 (1953)

HORECKER, B. L. et al.: J. biol. Chem. 238, 3428 (1963)

HOROWITZ, H. H. u. C. G. KING: J. biol. Chem. 205, 815 (1953)

HSIA, D. Y. Y. et al.: J. Pediat. 42, 277 (1953)

HUBBELL, J. P. et al.: Med. Clin. N.-Am. 49, 1035 (1965)

HUBBELL, J. P. et al.: New Engl. J. Med. 265, 835 (1961)

ISSELBACHER, K. J. u. MCCARTHY, E.: J. clin. Invest. 38, 645 (1959)

IVERSEN, O. H. u. K. MARCKER: Acta pharm. 18, 101 (KBH. 1961)

JUNGAS, R. L. u. E. G. BALL: Biochem. 2, 283 (1963)

JUNGAS, R. L.: Proc. nat. Acad. Sci. 56, 757 (Wash. 1966)

KAO, K. Y. T. et al.: Proc. Soc. Exper. Biol. 106, 121 (N. Y. 1961)

KARAM, J. H. et al.: Diabetes 12, 197 (1963)

KARUNAIRATNAM, M. C. et al.: Biochem. J. 45, 496 (1949)

KATSOYANNIS, P. G. et al.: J. Amer. Chem. Soc. 86, 930 (1964)

KETTERER, H. et al.: Diabetes 16, 283 (1967)

KOLDOVSKY, O. et al.: Exper. 21, 336 (Basel 1965)

KORNFELD, R. u. D. H. BROWN: J. biol. Chem. 238, 1604 (1963)

- KRAHL, M.E.: Amer. J. Physiol. 206, 618 (1964)
- KREBS, E.G. u. E.H. FISCHER: Adv. Enzymol. 24, 263 (1962)
- KREBS, E.G. et al.: J. biol. Chem. 231, 73 (1958)
- KÜHNAU, J. u. C. v. HOLT: Biochem. d. Diabetes. In: Tannhauser
Thieme, Stuttg. 1957
- KÜNZER, W.: In: KARGER, Basel-N.Y. 1951
- KÜNZER, W. Z. schr. f. Kinderhk. 77, 249 (1955)
- KUZUYA, T. et al.: Metabolism 15, 1149 (1966)
- LABHART, A.: Klinik der inneren Sekretion. 2. Aufl. Springer 1971
- LACY, P.E.: New Engl. J. Med. 276, 187 (1967)
- LACY, P.E. et al.: Nature 219, 1177 (London 1968)
- LAMBERT, A.E. et al.: Lancet 1967 I, 819
- LATHE, G.H. et al.: In: GAIRDNER, D.: Rec. adv. i. Pediat., p. 107
(Boston 1958)
- LATHE, G.H. u. M. WALKER: Biochem. J. 70, 705 (1958a)
- LAURANCE, B.M. u. B.H. SMITH: Lancet 1962 I, 589
- LEFEBRE, P.: Le glucagon, seconde hormone pancréatique.
Bruxelles: Editions Arsacia S.A. 1967
- LELOIR, L.F.: In: Phosphorus Metabolism. Vol. 1, p. 72, in:
The J. Hopkins Press (Balt. 1951)
- LESTER, R. u. R. SCHMID: New Engl. J. Med. 269, 178 (1963)
- LETHINEN, A. et al.: Acta chem. Scand. 12, 1585 (1958)
- LEVINE, R. u. M. S. GOLDSTEIN: Rec. Progr. Horm. Res. 11, 343 (1955)
- LEVY, G.A.: Biochem. J. 52, 464 (1952)
- LÜCKING, T.H. u. W. KÜNZER: Ann. paed. 206, 258 (Basel 1966)

- MADISON, L.L.: *Excerpta Med. Found.* 129 (1965)
- MAHLER, R. et al.: *Diabetes* 13, 297 (1964)
- MALAISSÉ, W.J. et al.: *J. clin. Invest.* 46, 1724 (1967)
- MANCHESTER, K.L.: *Excerpta Med. Found.* 1965
- MCCORMICK, D.B. u. O. TOUSTER: *J. biol. Chem.* 229, 451 (1957)
- MCCOY, E.E. u. V.A. NAJJAR: *J. biol. Chem.* 234, 3017 (1959)
- MCLEOD, J.J.R.: *J. metab. Res.* 2, 149 (1922)
- MEHLTRETTER, C.L.: *Adv. Carbohydr. Chem.* 8, 242 (1953)
- MERRIFIELD, P.B.: In: G. PINCUS: *Rec. Progr. Horm. Res.* (N.Y.-L. 1967)
- MEYTHALER, F. u. E. STAHNKE: *Arch. exper. Path. Pharm.* 152 (1930)
- MORGAN, H.E. et al.: *J. biol. Chem.* 239, 369 (1964)
- MORGAN, H.E. et al.: *J. biol. Chem.* 236, 253 (1961)
- MUNCH-PETERSEN, A.: *Nature* 172, 1036 (London 1953)
- MURLIN, J.R. et al.: *J. biol. Chem.* 56, 253 (1923)
- MÜTING, D.: *Verh. Dtsch. Ges. inn. Med.* 35, 964 (1957)
- NAJJAR, V.A. u. M.E. PULLMANN: *Science* 119, 631 (1954)
- NELIGAN, G.A.: *Nutr. Symp.: The Adaptation of the Newborn Infant to Extrauterine Life.*
- NEWCOMER, W.S. u. R.W. HENINGER: *Proc. Soc. Exper. biol. med.* 105, 32 (1960)
- OELZ, O. et al.: *Europ. J. clin. Invest.* 1, 48 (1970)
- PARK, C.R. et al.: *Amer. J. Med.* 26, 674 (1959)
- PARK, C.R. et al.: *Rec. Progr. Horm. Res.* 17, 493 (1961)
- PETERMANN, E.A.: *Lancet* 67, 451 (1947)
- PIAZZA, E.V. et al.: *Diabetes* 8, 459 (1959)

- PORATH, U. u. K. SCHREIER: M'schr. Kinderheilkunde 113, 304 (1965)
- PORTE, D. Jr.: Diabetes 16, 150 (1967)
- PORTE, D. Jr. et al.: Clin. Invest. 45, 228 (1966)
- POSTERNAK, T. et al.: Helv. chim. Acta 41, 235 (1958)
- RATISH, H. D. u. J. G. BULLOWA: Arch. Biochem. 2, 381 (1943)
- REDMONT, A. et al.: Lancet 1965 I, 283
- RENOLD, A. E. et al.: J. biol. Chem. 213, 135 (1955)
- ROBINSON, R. J.: Lancet 1968 II, 1243
- ROBISON, G. A. et al.: Ann. N. Y. Acad. Sci. 139, 703 (1967)
- ROMINGER, E.: Lehrb. d. Kinderhk., Springer 1950
- ROSSI, E.: In: Der KH-Stoffwechsel: Die physiol. Entw. d. Kindes
Springer 1959
- SAGISAKA, S. u. K. SHIMURA: J. Biochem. 52, 155 (Tokyo 1962)
- SAMOLS, E. et al.: Lancet 1965 II, 415
- SAMOLS, E. et al.: Lancet 1965 II, 1257
- SANGER, F. et al.: Biochem. J. 59, 509 (1955)
- SCHACHTER, D. et al.: J. biol. Chem. 234, 201 (1959)
- SCHARFF, R. u. I. G. WOOL: Biochem. J. 97, 272 (1965)
- SCHELLONG, G.: Icterus Neonatorum. Thieme, Stuttg. 1962
- SCHELLONG, G. u. J. ROCHOLL: M'schr. Kinderhk. 110, 8 (1962)
- SCHMID, R.: Schweiz. med. W'schr. 86, 775 (1956b)
- SCHREIER, K.: Z'schr. Kinderhk. 91, 157 (1964)
- SCHREIER, K. u. U. PORATH: M'schr. Kinderhk. 113, 304 (1965)
- SCHRÖTER, W.: In: "Die transit. Neugeb. hyperbilirubinämie
und ihre bichem. Grundlagen" Univ.-Kinderklinik
Hamburg 1970.
- SCHRÖTER, W.: M'schr. Kinderhk. 116, 162 (1968)'

- SCHRÖTER, W. u. U. EGGELING: Klin. W'schr. 43, 829 (1965a)
- SCHRÖTER, W. u. U. EGGELING: Klin. W'schr. 43, 116 (1965b)
- SCHULTZ-HAUDT, S. D.: Nord. Med. 68, 963 (1962)
- SCHÜRHOLZ, K. u. W. STAIB: Z. phys. Chem. 324, 38 (1961)
- SCHWARTZ, T. B. et al.: J. Lab. clin. Med. 54, 944 (1959)
- SHELLEY, H. J.: Brit. med. J. I, 273 (1964)
- SIMON, E. u. P. F. KRAICER: Israel. J. med. Sci. 2, 785 (1966)
- SLOBIN, L. I. u. F. H. CARPENTER: Biochemistry 2, 16 (1963)
- SMILEY, J. D. u. G. ASHWELL: J. biol. Chem. 236, 357 (1961)
- SMITH, C. A.: 3rd. Ed. Oxford: Blackwell Sci. Publ. 1959: The
 Physiology of the Newborn Infant.
- SOKAL, J. E.: Endocrinology 78, 538 (1966)
- SOLS, A.: Excerpta Med. Found. p118 (1965)
- STAUB, A., L. SINN u. O. K. BEHRENS: Science 117, 628 (1953)
- STEINER, D. u. P. OYER: Proc. nat. Acad. Sci. 57, 473 (Wash. 1967)
- STEINER, D. et al.: Rec. Progr. Horm. Res. 25, 207 (1969)
- STEVENSON, I. H. u. G. J. DUTTON: Biochem. J. 82, 320 (1962)
- STEVENSON, I. H. u. G. J. DUTTON: Biochem. J. 77, 19 (1960)
- STROMINGER, J. L. et al.: J. Amer. chem. Soc. 76, 6411 (1954)
- STROMINGER, J. L. et al.: J. biol. Chem. 224, 79 (1957)
- STRUCK, E. et al.: Biochem. Z'schr. 343, 107 (1965)
- SUTHERLAND, E. W. u. C. F. CORI: J. biol. Chem. 188, 531 (1951)
- SUTHERLAND, E. W. et al.: Rec. Progr. Horm. Res. 21, 623 (1965)
- SUTHERLAND, E. W. et al.: J. biol. Chem. 180, 128 (1949)
- TARNOWSKI, W.: Habil.-Schrift Med. Fak. Hamburg 1966

- THEILE, H. u. J. REICH: Z'schr. Kinderhk. 89, 201 (1964)
- TOMIZAWA, H. H.: J. biol. Chem. 237, 3393 (1962)
- TOMLINSON, G. A. u. S. J. YAFFE: Biochem. J. 99, 507 (1966)
- TOUSTER, O. et al.: Biochim. biophys. Acta 25, 196 (1957)
- TROLLE, D.: Lancet 1968a I, 251
- TROLLE, D.: Lancet 1968b II, 705
- ULSTROM, R. A. u. E. EISENKLAM: J. Pediat. 65, 27 (1964)
- UNGER, R. H. et al.: J. clin. Invest. 46, 630 (1967)
- UNGER, R. H. et al.: J. clin. Invest. 47, 48 (1968)
- USHER, R. u. J. LIND: Acta paed. scand. 54, 419 (1965)
- VAN HEYNINGEN, R.: Biochem. J. 65, 24 (1957)
- VECCHIO, D. et al.: Metabolism 15, 577 (1966)
- VENKATARAMAN, R. u. E. RACKER: J. biol. Chem. 236, 1876 (1961)
- VEST, M.: Physiologie u. Pathologie d. Neugeborenenikterus.
Bibl. Paediat. Suppl. Ann. Paed. Fasc. 69,
KARGER (Basel-N.Y. 1959)
- WEINGES, K. F.: Glucagon. In: G. WEITZEL u. N. ZÖLLNER (Ed.)
Biochemie u. Klinik, Thieme, Stuttg. 1968
- WEINHOUSE, S.: Diabetes 12, 6 (1963)
- WELSH, G. W. et al.: J. Med. 21, 324 (1956)
- WENNBERG, R. P. et al.: J. Pediat. 68, 860 (1966)
- WILLIAMS, R. T.: Detoxicat. Mechanisms.
Chapman and Hall, London 1959
- WOOL, J. G. u. P. CAVICCHI: Proc. nat. Acad. Sci. 56, 991 (Wash. 1966)

YLPPÖ, A.: Z'schr. Kinderhk. 9, 208 (1913)

YURA, T. u. H. J. VOGEL: J. biol. Chem. 234, 375 (1959)

ZAHN, H.: Verh. Dtsch. Ges. f. innere Med. 72, 800, München 1967

ZAHND, G. R. u. J. J. SCHEIDEGGER: Helv. med. Acta 30, 506 (1963)

ZUELZER, W. W. u. A. K. BROWN: Amer. J. Dis. Child. 101, 87 (1961).

Herrn Professor Dr.med.K.SCHREIER danke ich
herzlich für das Thema und die Überlassung des Arbeits-
platzes.

Frau Dr.med.U.PORATH bin ich für freundliche
Hilfe und Anleitung zu großem Dank verpflichtet.

Lebenslauf

Als Sohn des Dr.med.Bruno Naundorf und seiner Ehefrau Hertha Naundorf, geb.Pritzkow, wurde ich am 9.Mai 1939 in Bremen geboren.Mein Vater fiel 1943 auf Kreta.

Nach meiner Einschulung im Jahre 1947 besuchte ich von 1953 an das humanistische "Alte Gymnasium" in Bremen, wo ich 1961 die Reifeprüfung ablegte.

Mit dem Sommersemester 1961 begann ich das Medizinstudium an der Universität Heidelberg,abslvierte nach fünf Semestern das Physikum und legte im Herbst 1967 ebenfalls an der Universität Heidelberg die Ärztliche Prüfung ab.

Als Medizinalassistent verbrachte ich sechs Monate auf der chirurgischen Abteilung des Kreiskrankenhauses in Westerstede, sechs Monate auf der internen Abteilung der Städtischen Krankenanstalten in Delmenhorst und weitere vier Monate auf der geburtshilflich - gynäkologischen Abteilung dieser Krankenanstalten.

Es schlossen sich abermals sechs Monate chirurgischer Tätigkeit auf der chirurgischen Abteilung des Krankenhauses "Maria hilf" in Stadtlohn(Westf.)an.

Mit Erlangung der Approbation am 2.Januar 1970 wechselte ich auf die internistische Abteilung des Krankenhauses in Stadtlohn über,auf der ich seitdem als Assistenzarzt arbeite.

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990